UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

MARCELO PIRES NOGUEIRA DE CARVALHO

Patologia comparada das malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus* provenientes do sudeste brasileiro

São Paulo
2014

MARCELO PIRES NOGUEIRA DE CARVALHO

**Patologia comparada das malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e
Crotalus durissus provenientes do sudeste brasileiro**

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
2014

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2976
FMVZ

Carvalho, Marcelo Pires Nogueira
Patologia comparada das malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus* provenientes do sudeste brasileiro / Marcelo Pires Nogueira de Carvalho. -- 2014.
153 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

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

1. Teratogenia. 2. Análise morfométrica. 3. Microtomografia. 4. Histopatologia. 5. Serpentes.
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 malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus* provenientes do Sudeste Brasileiro", protocolado sob o nº 2691/2012, utilizando 500 (quinhentos) camundongos, 180 (cento e oitenta) serpentes adultas e 3300 (três mil e trezentos) filhotes de serpentes, 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 19/9/2012.

São Paulo, 20 de setembro de 2012.

Alice Maria Melville Paiva Della Libera
Vice-Presidente

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 34863-1	Data da Emissão: 25/06/2012 17:41
Dados do titular	
Nome: Sávio Stefanini Sant'Anna	CPF: 130.023.398-22
Título do Projeto: Correlação entre a ocorrência de malformações congênitas em serpentes peçonhentas neotropicais e o uso agrícola do solo no sudeste brasileiro	
Nome da Instituição : Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP	CNPJ: 63.025.530/0019-33

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	colheita do material biológico	08/2012	03/2014
2	análise do material coletado	08/2012	06/2014

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	Ressalta-se que ao ICMBio/SISBIO cabe apenas a AUTORIZAÇÃO da pesquisa ora pleiteada pelo Biólogo MSc Sávio Stefanini Sant'Anna, Pesquisador Científico do Butantan e Doutorando em Patologia Experimental e Comparada junto a USP/FMVZ. Desta forma, sugerimos que a questão do recebimento, pelo Butantan, de serpentes coletadas de forma irregular, por pessoas NÃO HABILITADAS e NÃO AUTORIZADAS órgão competente, caracteriza uma TERCEIRIZAÇÃO DE COLETA, situação essa que carece ser oficialmente reportada ao IBAMA-SP, para que o mesmo possa analisar a questão à luz da legislação ambiental vigente, com vistas a se chegar a um denominador comum sobre essa prática do Butantan, qual seja a de receber, como 'doação', animais silvestres entregues pela população em geral.
---	---

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. identidade	Nacionalidade
1	Kathleen Fernandes Grego	colaboradora	851.044.347-53	067170985 IFP-RJ	Brasileira
2	Marcelo Pires Nogueira de Carvalho	colaborador	333.781.038-17	43.299.894-9 SSP-SP	Brasileira
3	José Luiz Catão Dias	colaborador	029.597.888-00	8914397-8 SSP-SP-SP	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 24266314

Página 1/3

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 34863-1	Data da Emissão: 25/06/2012 17:41
Dados do titular	
Nome: Sávio Stefanini Sant'Anna	CPF: 130.023.398-22
Título do Projeto: Correlação entre a ocorrência de malformações congênitas em serpentes peçonhentas neotropicais e o uso agrícola do solo no sudeste brasileiro	
Nome da Instituição : Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP	CNPJ: 63.025.530/0019-33

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	SAO PAULO	SP	Instituto Butantan	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Crotalus durissus, Bothrops jararaca
2	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Crotalus durissus, Bothrops jararaca

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Répteis)	Fragmento de tecido/órgão, Animal encontrado morto ou partes (carcaça/osso/pele, Sangue)
---	-------------------------------	--

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	INSTITUTO BUTANTAN	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 24266314

Página 2/3

Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 34863-1	Data da Emissão: 25/06/2012 17:41
Dados do titular	
Nome: Sávio Stefanini Sant'Anna	CPF: 130.023.398-22
Título do Projeto: Correlação entre a ocorrência de malformações congênitas em serpentes peçonhentas neotropicais e o uso agrícola do solo no sudeste brasileiro	
Nome da Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia USP	CNPJ: 63.025.530/0019-33

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 24266314

Página 3/3

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: CARVALHO, Marcelo Pires Nogueira

Título: Patologia comparada das malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus* provenientes do sudeste brasileiro

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: _____

*Aos meus queridos,
Priscilla e Pedro.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. José Luiz Catão Dias, a quem tenho enorme respeito e admiração, pela orientação excepcional, pela paciência e dedicação durante todas as etapas deste trabalho, pelo incentivo constante à pesquisa e pela amizade.

Ao Pesquisador Sávio Stefanini Sant'Anna, pela generosidade em disponibilizar seu material de pesquisa para a realização desta dissertação. Além do coleguismo, amizade e colaboração constantes. Muito obrigado.

À Dra. Kathleen Fernandes Grego, pelo apoio profissional, desde a época da graduação, pela amizade e pelo exemplo. É um privilégio poder trabalhar contigo.

À Professora Dra. Eliana Reiko Matushima, a quem tenho enorme respeito e admiração, pelas conversas de corredor, sempre muito enriquecedoras, pelos conselhos, pela amizade, pelo apoio profissional e incentivo à pesquisa.

Às Professoras Doutoras Ana Carlonia B. de C. Fonseca Pinto e Carla Batista Lorigados, pelo auxílio e supervisão nas sessões de exames radiográficos e microtomográficos, bem como por toda ajuda na análise das imagens.

Aos técnicos do Serviço de Imagem da FMVZ -USP, principalmente ao Hugo, pela disponibilidade e bom humor em todas as sessões de exames radiográficos.

À técnica do equipamento de microtomografia, Simone Ferreira, do IB – USP, por toda dedicação, disponibilidade, ensinamentos e entusiasmo.

À Izabel Gogone, a quem tive o prazer de co-orientar durante seu programa de iniciação científica, pela dedicação e seriedade na realização do seu projeto de pesquisa, pelas fotos cedidas a esta dissertação e pela amizade.

À Professora Dra. Tânia de Freitas Raso, pelas conversas informais e pelo apoio profissional em diversas situações, acadêmicas ou não.

Aos doutores Ralph Vanstreels e Nicolle Queiroz, pelo auxílio no delineamento estatístico deste estudo.

Ao Danilo Marin Rodrigues pela colaboração na edição das imagens fotográficas.

Aos funcionários da biblioteca Virginie Buff D'Apice sempre dispostos em ajudar, em especial à Elena Tanganini, Elza Faquim, Evadne Azeredo e Michelle Alves.

Aos técnicos do laboratório de histopatologia, Luciano e Cláudio, obrigado pela paciência, pela disponibilidade e pelos ensinamentos.

Aos amigos lapconianos: Alexander Puerto, Angélica Sarmiento, Camila Molina, Carlos Sacristan, Catia Dejuste, Cláudia Niemeyer, Fabíola Prioste, Juliana Marigo, Jorge Oyakawa, Kátia Groch, Laura Reisfeld, Marco Gattamorta, Marina Bueno, Ralph Vanstreels, Rosely Gioia, Samira Costa, Sândara, Silmara Rossi, e Valéria Ruopollo. É um orgulho poder fazer parte deste time.

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, pela receptividade, em especial à Patrícia, Bruno, Jarbas, Diego Rugno, Diego Rúbio e Cíntia, sempre dispostos a ajudar, em vários momentos da execução deste projeto.

Aos meus queridos, Priscilla e Pedro, por compreenderem a ausência em alguns momentos, pelo apoio e por serem meu maior incentivo em tudo.

À minha família, pais, irmã, tios, primos e avós, pela estrutura familiar que me propuseram, pelos momentos de alegria e pelo amor constante.

Aos meus sogros, Paulo e Regina, por todo apoio durante as fases de realização desta pesquisa, sem a ajuda de vocês não teria conseguido. Muito obrigado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

A todos que colaboraram direta e indiretamente para a conclusão desta dissertação. Muito obrigado!

Este trabalho foi desenvolvido conjuntamente com o Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM), do Departamento de Patologia – FMVZ – USP e com o Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan.

RESUMO

CARVALHO, M. P. N. **Patologia comparada das malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus* provenientes do sudeste brasileiro**. [Comparative pathology of congenital malformations in *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus* from Southeast Brazil]. 2014. 153 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Malformações congênitas, teratogênias ou anomalias do desenvolvimento são processos patológicos definidos como defeitos estruturais que se originam durante a vida embrionária. A ocorrência de teratogênias tem sido relatada em todas as classes de vertebrados e geralmente são incompatíveis com um período de vida prolongado. Uma ampla variedade destas malformações é descrita em répteis, principalmente nas espécies que compreendem a ordem Squamata. Acredita-se que as malformações nestes animais ocorram devido a causas genéticas e/ou ambientais incluindo-se, dentre outras possibilidades, a baixa variabilidade gênica de algumas populações, as alterações de temperatura e umidade ambientais, e a poluição do meio-ambiente. A caracterização e o entendimento dos processos patológicos envolvidos nestas anomalias são de fundamental importância para a compreensão dos fatores que interferem com a conservação dos vertebrados em geral e, no que remete ao presente estudo, das serpentes em específico. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi caracterizar as alterações macroscópicas e histopatológicas presentes em 102 serpentes acometidas por teratogênias, compreendendo as espécies *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus*, correlacionando as alterações histopatológicas identificadas com as malformações. As características macroscópicas das teratogênias foram avaliadas por meio de exames morfométricos, radiográficos, microtomográficos e necroscópicos. Alterações histopatológicas foram identificadas por meio de análise óptica de luz a partir de métodos citoquímicos rotineiros e especiais. O estudo revelou que serpentes da espécie *B. jararaca* apresentaram lesões axiais mais severas que indivíduos da espécie *C. durissus*. Nas análises intraespecíficas, fêmeas de *C. durissus* apresentaram lesões axiais mais severas e em maior número que os machos. No que diz respeito à distribuição destas lesões, indivíduos da espécie *C. durissus* apresentaram o terço final da coluna, como a região mais acometida pelas malformações axiais. A caracterização microtomográfica de teratogênias específicas (anoftalmia, bicefalia, buftalmia, cauda enrodilhada, ciclopia, cifoescoliose, hidrocefalia, lordose, malformação cefálica e prognatismo), permitiu a análise detalhada destas anomalias e a documentação de alterações morfológicas originais para serpentes como, por exemplo, a

agenesia dos ossos frontal, parietal e supraoccipital em *B. jararaca* portadora de malformação cefálica. A relação entre as alterações histopatológicas e as malformações externas mostrou a existência de correlação estatisticamente significativa entre a incidência de doenças renais císticas em serpentes acometidas por braquignatia, quadros inflamatórios oculares em serpentes portadoras de buftalmia, e a desorganização das fibras musculares periaxiais e fusão de corpos vertebrais em serpentes portadoras de lordose. Os dados obtidos constituem uma base de informações úteis para estudos futuros no campo da patologia, teratologia, embriologia e ecotoxicologia em serpentes.

Palavras-chave: Teratogenia. Análise morfométrica. Microtomografia. Histopatologia. Serpentes.

ABSTRACT

CARVALHO, M. P. N. **Comparative pathology of congenital malformations in *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus* from Southeast Brazil**. [Patologia comparada das malformações congênitas em *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus* provenientes do sudeste brasileiro]. 2014. 153 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Congenital malformations, developmental abnormalities or teratogeny are pathological processes defined as structural defects that originate during embryonic life. The occurrence of teratogeny has been reported in all classes of vertebrates and is generally incompatible with a prolonged life. A wide variety of these malformations is described in reptiles, especially in species that comprise the Squamata order. It is believed that the defects in these animals occur due to genetic and/or environmental causes including, among other possibilities, the low genetic variability of some populations, changes in environmental temperature and humidity, and environmental pollution. Characterization and understanding of the pathological processes involved in these anomalies are of fundamental importance for the comprehension of factors that interfere with vertebrates conservation in general and, referring to this study, snakes in particular. In this context, the objective of this research was to characterize the macroscopic and histopathological changes present in 102 snakes affected by congenital malformations, comprising the species *Bothrops jararaca* and *Crotalus durissus*, correlating histopathological changes with malformations. The macroscopic characteristics of deformities were evaluated by morphometric, radiographic, microtomographic and necropsy analysis. Histopathological changes were identified by light microscopy from routine and special cytochemical methods. The study revealed that *B. jararaca* snakes had more severe axial lesions than individuals of *C. durissus* species. In intraspecific analyses, females of *C. durissus* presented more severe and more numerous axial lesions than males. Regarding lesions distribution, the spinal cord and body final third in individuals of *C. durissus* species was the region most affected by axial defects. The microtomographic characterization of specific teratogenies (anophthalmia, bicefaly, buphthalmia, curled tail, cyclopia, kyphoscoliosis, hydrocephaly, lordosis, cephalic malformation and prognathism) allowed detailed analysis of these anomalies and the first documentation of certain morphological changes in snakes, for example, agenesis of the frontal, parietal and supraoccipital bones in a *B. jararaca* presenting cephalic malformation. The relationship between histopathological changes and external malformations showed a statistically significant correlation between the

incidence of cystic kidney disease in snakes affected by brachygnathia, ocular inflammatory conditions in snakes affected by buphthalmia, and disorganization of periaxial muscle fibers and fusion of vertebral bodies in snakes presenting lordosis. This research has provided useful and informative data for future studies in the fields of pathology, teratology, embryology and ecotoxicology in snakes.

Keywords: Teratogeny. Morphometric analysis. Microtomography. Histopathology. Snakes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	<i>Bohtrops jararaca</i> (jararaca) – São Paulo – 2013	30
Figura 2 –	<i>Crotalus durissus</i> (cascavel) – São Paulo – 2013	31
Figura 3 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de coração (HE)	57
Figura 4 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de coluna vertebral (sentido longitudinal) (HE)	57
Figura 5 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico da glândula de veneno (HE).....	57
Figura 6 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de estômago (HE)	57
Figura 7 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de intestino delgado (HE)	57
Figura 8 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de fígado (HE)	57
Figura 9 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de baço e pâncreas (HE)	58
Figura 10 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de pulmão (HE).....	58
Figura 11 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de rim (HE)	58
Figura 12 –	<i>B. jararaca</i> . Corte histológico de medula espinhal (sentido transversal) (HE)	58
Figura 13 –	<i>C. durissus</i> . Corte histológico de olho (HE)	58
Figura 14 –	<i>C. durissus</i> . Imagem radiográfica com destaque para os desvios angulares da coluna, ilustrando o método de análise morfométrica – São Paulo – 2014	65
Figura 15 –	Exame microtomográfico em <i>B. jararaca</i> – São Paulo – 2014	66
Figura 16 –	<i>B. jararaca</i> . Alteração do padrão de coloração da pele – São Paulo – 2014.....	71
Figura 17 –	<i>B. jararaca</i> . Buftalmia – São Paulo – 2014	71
Figura 18 –	<i>B. jararaca</i> . Anoftalmia – São Paulo – 2014.....	71
Figura 19 –	<i>B. jararaca</i> . Anoftalmia. – São Paulo – 2014.....	71
Figura 20 –	<i>B. jararaca</i> . Ciclopia. – São Paulo – 2014	71
Figura 21 –	<i>B. jararaca</i> . Ciclopia – São Paulo – 2014	71
Figura 22 –	<i>B. jararaca</i> . Bicefalia. – São Paulo – 2014	72
Figura 23 –	<i>B. jararaca</i> . Bicefalia. – São Paulo – 2014	72
Figura 24 –	<i>B. jararaca</i> . Bicefalia, fusão de escamas ventrais e cifose acentuada – São Paulo – 2014	72
Figura 25 –	<i>B. jararaca</i> . Fusão de escamas ventrais – São Paulo – 2014	72
Figura 26 –	<i>B. jararaca</i> . Cauda incompleta – São Paulo – 2014	72
Figura 27 –	<i>B. jararaca</i> . Cauda enrodilhada – São Paulo – 2014.....	72
Figura 28 –	<i>B. jararaca</i> . Hidrocefalia – São Paulo – 2014.....	73
Figura 29 –	<i>B. jararaca</i> . Prognatismo – São Paulo – 2014.....	73
Figura 30 –	<i>B. jararaca</i> . Braquignatia – São Paulo – 2014	73
Figura 31 –	<i>B. jararaca</i> . Lordose – São Paulo – 2014.....	73
Figura 32 –	<i>C. durissus</i> . Cifose – São Paulo – 2014.....	73
Figura 33 –	<i>C. durissus</i> . Escoliose – São Paulo – 2014.....	73
Figura 34 –	<i>B. jararaca</i> . Esquistossomia – São Paulo – 2014.....	74
Figura 35 –	<i>B. jararaca</i> . Esquistossomia – São Paulo – 2014.....	74
Figura 36 –	<i>B. jararaca</i> . Malformação cefálica seguida de cifoescoliose – São Paulo – 2014	74
Figura 37 –	<i>B. jararaca</i> . Malformação cefálica com bifurcação axial – São Paulo – 2014.....	74
Figura 38 –	<i>B. jararaca</i> . Nanismo – São Paulo – 2014.....	74
Figura 39 –	<i>B. jararaca</i> . Feto. Cifoescoliose – São Paulo – 2014	74

Figura 40 –	Número total de lesões por segmento corpóreo – São Paulo – 2014.....	75
Figura 41 –	Correlação entre localização e angulação das malformações de coluna – São Paulo – 2014	76
Figura 42 –	<i>B. jararaca</i> . Correlação entre localização e angulação das lesões de coluna, distribuídas por segmento do corpo – São Paulo – 2014	77
Figura 43 –	<i>C. durissus</i> . Correlação entre localização e angulação das lesões de coluna, distribuídas pelos segmentos do corpo – São Paulo – 2014.....	77
Figura 44 –	Angulação das malformações em coluna, presentes em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> – São Paulo -2014	78
Figura 45 –	Número de lesões de coluna, comparado entre machos e fêmeas – São Paulo – 2014	79
Figura 46 –	Angulações das malformações de coluna, comparado entre machos e fêmeas – São Paulo – 2014	79
Figura 47 –	Anatomia microtomográfica normal do crânio de <i>C. durissus</i> – São Paulo – 2014	80
Figura 48 –	Reconstrução microtomográfica do crânio de <i>B. jararaca</i> . BjMct 01 – São Paulo – 2014	82
Figura 49 –	Reconstrução microtomográfica do crânio de <i>B. jararaca</i> . BjMct 02 – São Paulo – 2014	82
Figura 50 –	Reconstrução microtomográfica do crânio de <i>B. jararaca</i> . BjMct 03 – São Paulo – 2014	83
Figura 51 –	Reconstrução microtomográfica do crânio de <i>B. jararaca</i> . BjMct 04 – São Paulo – 2014	84
Figura 52 –	Reconstrução microtomográfica de cauda enrodilhada em <i>B. jararaca</i> . BjMct 05 – São Paulo – 2014	84
Figura 53 –	Reconstrução microtomográfica do crânio e porção mais cranial da coluna vertebral em <i>B. jararaca</i> . BjMct 06 – São Paulo – 2014.....	85
Figura 54 –	Reconstrução microtomográfica de bifurcação axial em <i>B. jararaca</i> . BjMct 07– São Paulo – 2014	86
Figura 55 –	Reconstrução microtomográfica de coluna em <i>B. jararaca</i> . BjMct 08 – São Paulo – 2014	86
Figura 56 –	Reconstrução microtomográfica de bifurcação rostral em <i>B. jararaca</i> . BjMct 09 – São Paulo – 2014	87
Figura 57 –	Reconstrução microtomográfica do esqueleto de <i>C. durissus</i> . CdtMct 10 – São Paulo – 2014	88
Figura 58 –	Reconstrução microtomográfica de malformação cefálica, cifoesciose e lordose em <i>B. jararaca</i> . BjMct 11– São Paulo – 2014	89
Figura 59 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj13). Doença renal cística tubular severa, multifocal (HE)	103
Figura 60 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj13). Doença renal glomerulocística moderada, multifocal (HE)	103
Figura 61 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj14). Dilatação tubular renal e edema intersticial difuso (HE).....	103
Figura 62 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj53). Nefrite granulocítica moderada a severa, difusa (HE).....	103
Figura 63 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj53). Nefrite intersticial granulocítica moderada a severa difusa (HE).....	103
Figura 64 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj14). Dilatação tubular renal moderada, difusa e nefrite intersticial (GR)	103

Figura 65 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj14). Dilatação tubular renal, moderada, difusa (WS).....	104
Figura 66 –	Rim de <i>B. jararaca</i> (Bj43). Esteatose renal moderada, difusa (HE)	104
Figura 67 –	Fígado de <i>B. jararaca</i> (Bj47). Esteatose hepática moderada, difusa (HE).....	104
Figura 68 –	Rim de <i>C. durissus</i> (Cd14). Congestão renal moderada, difusa (HE)	104
Figura 69 –	Fígado de <i>B. jararaca</i> (Bj19). Congestão hepática moderada, multifocal (HE)	104
Figura 70 –	Fígado de <i>B. jararaca</i> (Bj38). Hepatite granulocítica discreta a moderada, difusa (HE)	104
Figura 71 –	Fígado de <i>B. jararaca</i> (Bj55). Hemorragia hepática discreta a moderada, multifocal, coalescente (HE).....	105
Figura 72 –	Intestino delgado de <i>B. jararaca</i> (Bj23). Enterite granulocítica discreta, difusa (HE)	105
Figura 73 –	Coração de <i>C. durissus</i> (Cd01). Epicardite mista, moderada, difusa (HE).....	105
Figura 74 –	Coração de <i>C. durissus</i> (Cd01). Epicardite mista, moderada, difusa (HE).....	105
Figura 75 –	Coração de <i>B. jararaca</i> (Bj22). Miocardite granulocítica discreta a moderada, difusa (HE)	105
Figura 76 –	Cavidade celomática de <i>B. jararaca</i> (Bj13). Celomite focal, mista, moderada (HE).....	105
Figura 77 –	Pulmão de <i>B. jararaca</i> (Bj47). Pneumonia intersticial granulocítica, discreta a moderada, difusa (HE).....	106
Figura 78 –	Pulmão de <i>B. jararaca</i> (Bj27). Congestão pulmonar moderada difusa (HE).....	106
Figura 79 –	Baço de <i>B. jararaca</i> . (Bj53). Cisto esplênico (HE)	106
Figura 80 –	Pâncreas de <i>B. jararaca</i> (Bj53). Distensão de ductos pancreáticos (HE).....	106
Figura 81 –	Medula espinhal de <i>B. jararaca</i> (Bj61). Congestão medular multifocal moderada (HE).....	106
Figura 82 –	Medula espinhal de <i>B. jararaca</i> (Bj61). Meningite granulocítica difusa, discreta a moderada (HE).....	106
Figura 83 –	Meninges de <i>B. jararaca</i> (Bj61). Meningite granulocítica difusa, discreta a moderada (HE).....	107
Figura 84 –	Gânglio neural de <i>B. jararaca</i> (Bj11). Ganglionite granulocítica focal, discreta a moderada (HE).....	107
Figura 85 –	Cavidade oral de <i>B. jararaca</i> (Bj65). Estomatite mista, expansiva, discreta a moderada (HE).....	107
Figura 86 –	Pele de <i>B. jararaca</i> (Bj70). Dermatite necrótica, granulocítica, abscedante, multifocal (HE).....	107
Figura 87 –	Olho de <i>B. jararaca</i> (Bj09). Ceratite granulocítica, severa, difusa (HE) ..	107
Figura 88 –	Espectáculo de <i>B. jararaca</i> (Bj09). Dermatite granulocítica intra-espectacular, severa, difusa com presença de colônias bacterianas.....	107
Figura 89 –	Coluna de <i>B. jararaca</i> (Bj15). Fusão de corpos vertebrais (HE).....	108
Figura 90 –	Músculo esquelético de <i>B. jararaca</i> (Bj15). Desarranjo de musculatura periaxial (HE)	108
Figura 91 –	Musculatura esquelética de <i>B. jararaca</i> (Bj12). Edema intersticial difuso, discreto a moderado, em fibras musculares periaxiais (HE).....	108

Figura 92 –	Musculatura esquelética de <i>B. jararaca</i> (Bj12). Edema intersticial difuso, discreto a moderado, em fibras musculares periaxiais (HE).....	108
Figura 93 –	Calota craniana de <i>B. jararaca</i> (Bj61). Hemorragia submeningeana moderada difusa (HE)	108
Figura 94 –	Esquistossomia em <i>B. jararaca</i> (Bj53). Fígado exteriorizado (HE).....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de bicefalia	90
Tabela 2 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de braquignatia	91
Tabela 3 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de buftalmia.....	92
Tabela 4 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de cauda enrodilhada.....	92
Tabela 5 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de cauda incompleta.....	93
Tabela 6 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de cifoescoliose	94
Tabela 7 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de cifose	95
Tabela 8 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de escoliose	96
Tabela 9 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de esquistossomia.....	97
Tabela 10 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de fendas labiais	98
Tabela 11 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de fusão de escamas ventrais	98
Tabela 12 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de hidrocefalia.....	99
Tabela 13 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i> portadoras de lordose	100
Tabela 14 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de malformação cefálica	100
Tabela 15 –	Alterações histopatológicas identificadas em <i>B. jararaca</i> portadoras de prognatismo.....	101
Tabela 16 –	Alterações histopatológicas apresentadas pelo grupo controle em número de positivos/número de analisados (n) e porcentagem (%)	101

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Valores de r e p para as correlações entre o grau e localização das malformações de coluna em <i>B. jararaca</i> e <i>C. durissus</i>	77
Quadro 2 –	Análises microtomográficas distribuídas de acordo com a identificação, espécie e malformação externa	81

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	25
2.	REVISÃO DA LITERATURA	28
2.1	ASPECTOS DA HISTÓRIA NATURAL DAS SERPENTES	29
2.2	MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS	31
2.2.1	Malformações congênitas em répteis.....	33
2.2.1.1	Anomalias de pigmentação	34
2.2.1.2	Malformações e anomalias de escamas	35
2.2.1.3	Bicefalia	36
2.2.1.4	Deformidades de coluna.....	37
2.2.1.5	Malformações ou agenesia da cauda.....	38
2.2.1.6	Nanismo	39
2.2.1.7	Esquistossomia.....	40
2.2.1.8	Malformações oculares	41
2.2.1.8.1	<i>Ciclopia</i>	41
2.2.1.9	Malformações cefálicas.....	42
2.2.1.10	Malformações dos órgãos internos	43
2.3	HISTOLOGIA COMPARADA DOS RÉPTEIS	44
2.3.1	Sistema tegumentar	45
2.3.2	Sistema muscular	46
2.3.3	Sistema cardiovascular	46
2.3.4	Sistema esquelético.....	47
2.3.5	Sistema digestório	47
2.3.6	Baço	49
2.3.7	Sistema respiratório.....	50
2.3.8	Sistema urinário	50
2.3.9	Sistema nervoso central	52
2.3.10	Olho	53
2.4	OSTEOLOGIA COMPARADA DOS RÉPTEIS	53
2.5	COLORAÇÕES HISTOQUÍMICAS	54
2.5.1	Hematoxilina e eosina	55

2.5.2	Grocott metamina (hexamina) - prata	55
2.5.3	Warthin Starry	55
2.5.4	Von Kossa	56
2.6	MICROTOMOGRÁFIA	56
3	OBJETIVOS.....	59
3.1	OBJETIVO GERAL	60
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	60
4	MATERIAL E MÉTODOS	61
4.1	LICENÇAS	62
4.2	ANIMAIS	62
4.3	CLASSIFICAÇÃO, DOCUMENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MACROSCÓPICA DAS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS	63
4.3.1	Classificação das malformações.....	63
4.3.2	Documentação fotográfica.....	63
4.3.3	Exames radiográficos e análise biométrica das malformações	64
4.3.4	Exames microtomográficos	65
4.3.5	Exame necroscópico	66
4.4	CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA DAS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS	67
4.4.1	Processamento histológico e análise histopatológica.....	67
4.4.2	Documentação fotográfica.....	67
4.4.3	Mensuração da densidade mineral óssea em tecidos teratogênicos	68
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	68
5	RESULTADOS	69
5.1	CLASSIFICAÇÃO E DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA DAS MALFORMAÇÕES EXTERNAS	70
5.2	CARACTERIZAÇÃO RADIOGRÁFICA E ANÁLISE MORFOMÉTRICA	75
5.2.1	Análise do número de lesões por segmento do corpo.....	75
5.2.2	Correlação entre angulação e localização das malformações de coluna, distribuídos pelo comprimento corpóreo total	76
5.2.3	Correlação entre angulação e localização das malformações de coluna, distribuídas por segmento do corpo	76
5.2.4	Análise comparativa interespecífica das angulações das malformações de coluna	78

5.2.5	Análise comparativa intraespecífica do número de lesões entre machos e fêmeas	78
5.2.6	Análise comparativa intraespecífica das angulações das malformações de coluna entre machos e fêmeas	79
5.3	CARACTERIZAÇÃO MICROTOMOGRÁFICA.....	80
5.4	ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS	90
5.4.1	Análises descritiva e estatística das alterações histopatológicas observadas nas serpentes teratogênicas, distribuídas de acordo com a malformação	90
5.4.1.1	Bicefalia	90
5.4.1.2	Braquignatia	91
5.4.1.3	Buftalmia.....	91
5.4.1.4	Cauda enrodilhada	92
5.4.1.5	Cauda incompleta.....	93
5.4.1.6	Cifoesciose.....	94
5.4.1.7	Cifose	95
5.4.1.8	Escoliose	95
5.4.1.9	Esquistossomia.....	96
5.4.1.10	Fendas labiais	97
5.4.1.11	Fusão de escamas ventrais	98
5.4.1.12	Hidrocefalia.....	99
5.4.1.13	Lordose	99
5.4.1.14	Malformação cefálica.....	100
5.4.1.15	Prognatismo	101
5.4.2	Alterações histopatológicas apresentadas pelo grupo controle	101
5.4.3	Análise da densidade óssea em tecidos teratogênicos corados pela técnica de Von Kossa	102
5.4.4	Documentação fotográfica e descrição das alterações histopatológicas.....	102
6	DISCUSSÃO.....	109
6.1	ANÁLISE DA AMOSTRAGEM	110
6.2	ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS LESÕES DE COLUNA	111
6.3	ANÁLISE DOS RESULTADOS MICROTOMOGRÁFICOS	112
6.3.1	Anomalias oculares	113
6.3.2	Hidrocefalia	114
6.3.3	Bicefalias	115

6.3.4	Lesões de coluna	116
6.3.4.1	Cauda enrodilhada	117
6.3.5	Malformações cefálicas	117
6.4	ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS	118
6.4.1	Correlação entre braquignatia e doença renal cística	118
6.4.2	Correlação entre buftalmia, dermatite intraespectacular, ceratoconjuntivite e hepatite	119
6.4.3	Correlação entre lordose, desarranjo da musculatura periaxial e fusão de corpos vertebrais	120
6.4.4	Outras alterações	120
6.4.4.1	Congestão da medula espinhal e meningite, relacionada à cifose, escoliose e cifo escoliose	120
6.4.4.2	Cisto esplênico	121
6.4.4.3	Hemorragia submeningeana correlacionada à hidrocefalia	122
6.4.4.4	Edema renal intersticial	122
6.4.4.5	Nefrite intersticial	123
6.5	ALTERAÇÕES APRESENTADAS PELO GRUPO CONTROLE	123
6.6	ANÁLISE COMPARATIVA DA DENSIDADE ÓSSEA ENTRE TECIDOS TERATOGENICOS E SAUDÁVEIS	124
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	125
	REFERÊNCIAS	127
	APÊNDICES	139

1 INTRODUÇÃO

Bothrops jararaca

1 INTRODUÇÃO

Malformações congênitas, teratogênias ou anomalias do desenvolvimento são processos patológicos definidos como defeitos estruturais que se originam durante a vida embrionária, sejam estes identificados em um embrião ou em qualquer momento após seu nascimento (BELLAIRS, 1981; FRYE, 1991c; KALTER, 2003).

Os processos teratogênicos podem ser macroscópicos ou microscópicos, e passíveis de serem encontrados em qualquer tipo de tecido ou órgão (WARKANY, 1947). Malformações têm sido descritas em todas as classes de vertebrados e geralmente são incompatíveis com um período de vida prolongado (BELLAIRS, 1981; HASCHEK; ROUSSEAUX, 1998; KALTER, 2003).

Em humanos as teratogênias são reconhecidas como a principal causa de morte fetal ou neonatal, presentes em cerca de 3% dos recém-nascidos (BELLAIRS, 1981; HASCHEK; ROUSSEAUX, 1998; KALTER, 2003). Nos animais domésticos a incidência de anomalias fenotípicas varia substancialmente, com porcentagens entre 2-12%, de acordo com a espécie (HASCHEK; ROUSSEAUX, 1998).

Estudos sobre as malformações têm sido realizados em humanos, em animais domésticos e de laboratório, porém pouco se sabe sobre sua ocorrência e impacto nas populações de animais selvagens, especialmente aquelas em vida livre (LEIPOLD, 1980; KALTER, 2003). As causas do desenvolvimento de malformações em animais selvagens ainda não estão bem elucidadas porém, como em espécies domésticas, sabe-se que sua origem ocorre durante a organogênese, em períodos críticos ainda não claramente definidos (HASCHEK; ROUSSEAUX; WALLIG, 2010).

Segundo Bellairs (1981) e Frye (1991c), uma ampla variedade de teratogênias é descrita em répteis, principalmente nas espécies que compreendem a ordem Squamata, na qual se encontram as serpentes. Malformações nestes animais podem surgir devido a fatores genéticos e/ou ambientais (BELLAIRS, 1981; SANT'ANNA et al., 2013).

O *pool* genético de algumas destas espécies se encontra severamente concentrado devido ao isolamento de populações, decorrente de limitações geográficas como ilhas, ou da fragmentação de habitats causada pela ação antrópica (FRYE, 1991c; TÓTH et al., 2005). Ainda, muitas espécies se reproduzem por partenogênese, dando origem a indivíduos geneticamente idênticos, o que contribui para a expressão de genes promotores de teratogênias (BILLY, 1986; FRYE, 1991c). No quesito ambiental, temperatura e umidade são

apontadas como os principais fatores indutores, embora contaminantes (principalmente defensivos agrícolas) e infecções também sejam citados como causas ambientais importantes (BELLAIRS, 1981; WALLACH, 2007; JOHNSON et al., 2010).

Algumas teratogênias são descritas em serpentes, como, dentre outras: bicefalia, hidrocefalia, braquignatia, fendas labiais, micrognatia, malformações de cabeça, esquistossomia, cauda enrodilhada, cauda incompleta, nanismo, anoftalmia, microftalmia, buftalmia, ciclopia, fusão e heterotopia de escamas, e deformações de coluna (cifose, escoliose e lordose) (PENDELEBURY, 1976; BELLAIRS, 1981; FEDERSONI, 1981; ANDRADE; ABE, 1993; WALLACH, 2007; SANT'ANNA et al., 2013). Em menor frequência, malformações viscerais também são descritas, envolvendo deformidades em coração, rins, estômago, esôfago, fígado, vesícula biliar e traqueia (SCOTT, 1925; ÓROS et al., 1997; JENSEN; WANG, 2009; PALMIERI et al., 2013).

Embora existam estudos publicados em literatura, poucos abordam a investigação histopatológica destas lesões, associando os achados microscópicos com as características externas da malformação (SCOTT, 1925; ÓROS et al., 1997; JENSEN; WANG, 2009; PALMIERI et al., 2013).

A caracterização e o entendimento dos processos patológicos (macroscópicos e microscópicos) envolvidos nas anomalias congênitas são de fundamental importância para a compreensão dos fatores que interferem com a conservação dos vertebrados em geral e, no que remete ao presente projeto, das serpentes em especial.

Neste sentido, o objetivo desta pesquisa foi investigar e contribuir para a caracterização morfológica das alterações macroscópicas e histopatológicas presentes em duas espécies de viperídeos neotropicais acometidos por teratogênias, *Bothrops jararaca* (jararaca) e *Crotalus durissus* (cascavel).

2 REVISÃO DA LITERATURA

Crotalus durissus

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS DA HISTÓRIA NATURAL DAS SERPENTES

A classe Reptilia compreende aproximadamente seis mil espécies distribuídas em quatro Ordens distintas: Crocodilia, representada pelos jacarés, gaviais e crocodilos; Chelonia, constituída pelas tartarugas, cágados e jabutis; Squamata, da qual fazem parte as serpentes, as anfisbaenas e os lagartos, e Rhynchocephalia, que apresenta uma única espécie, *Sphenodon punctatus*, também conhecida como tuatara (COBORN, 1991¹ apud ZANOTTI, 2007, p. 35).

Atualmente existem cerca de 2.900 espécies de serpentes no mundo, distribuídas em 465 gêneros e 20 famílias, ocupando geograficamente quase todos os ambientes do globo, com exceção das calotas polares (FRANCO, 2003). Existem serpentes aquáticas (água salgada), semi-aquáticas (água doce) e terrestres. No ambiente terrestre ocupam nichos fossoriais, terrestres e arborícolas, habitando matas, savanas e desertos (FRANCO, 2003).

O Brasil possui uma rica fauna de serpentes, composta por cerca de 370 espécies, classificadas em 73 gêneros e reunidas em 10 famílias (BÉRNILS, 2010). Apesar de contar com tradicionais instituições e especialistas no assunto, muitas espécies dessa fauna são ainda mal conhecidas ou pouco estudadas (MELGAJERO, 2003).

A família Viperidae, com cerca de 250 espécies, é constituída por serpentes com aparelho inoculador de veneno do tipo solenóglifo. A fauna de viperídeos do Brasil inclui cinco gêneros: *Bothrops*, *Bothriopsis*, *Bothrocophias*, *Crotalus* e *Lachesis*; que somam ao redor de 30 espécies (MELGAREJO, 2003).

De acordo com o Ministério da Saúde² (2006 apud ZANOTTI, 2007, p. 31), o gênero *Bothrops* possui algumas das espécies mais importantes do ponto de vista médico, responsáveis por cerca de 90% dos 28.597 acidentes ofídicos notificados anualmente no Brasil. São espécies muito abundantes, com uma ampla distribuição geográfica e com populações importantes nas diversas regiões do país.

A espécie *Bothrops jararaca* (*B. jararaca*) (WIED, 1824), conhecida popularmente como jararaca (Figura 1), é encontrada ao sul da Bahia, na Região Sudeste, nos estados do

¹COBORN, J. **The atlas of snakes of the world**. Neptune City: TFH Publications, 1991. 591p.

²MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Secretaria de vigilância em saúde*: Departamento de Vigilância e Epidemiologia. Disponível em <<http://www.portal.saude.gov.br>>. Acesso em: 28 dez. 2006.

Paraná e Santa Catarina, podendo alcançar os estados do Mato Grosso e Goiás (GREGO, 2006). A jararaca ocupa ampla diversidade de habitats, desde florestas tropicais decíduais e semitropicais, até campos abertos (GREGO, 2006). O tamanho médio dessas serpentes é cerca de um metro, mas há relatos de exemplares com até 1,5 metros (MELGAREJO, 2003). Sua coloração pode variar do amarelo claro ao negro (MELGAREJO, 2003). Trata-se de uma serpente vivípara e, quando filhotes, sua alimentação consiste de anuros e pequenos lagartos, alterando para aves e pequenos mamíferos quando adultos (ANDRADE; ABE, 1999³ apud GREGO, 2006, p. 23). Ágil, sobe com facilidade em arbustos e telhados baixos e tem uma grande capacidade adaptativa, ocupando e colonizando tanto áreas silvestres, agrícolas e suburbanas, como até áreas urbanas (MELGAREJO, 2003).

Figura 1 – *Bothrops jararaca* (jararaca) – São Paulo – 2013

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2013).

As serpentes do gênero *Crotalus* (LINNAEUS, 1758) são terrestres, robustas e pouco ágeis. Sua característica mais saliente é a presença do chocalho ou guizo no extremo da cauda (MELGAREJO, 2003). O corpo, com a linha vertebral bem pronunciada, apresenta um colorido de fundo castanho-claro com tonalidades variáveis, sobre o qual se destaca uma fileira de manchas dorsais em forma de losango, marginadas de branco ou amarelo (MELGAREJO, 2003).

³ ANDRADE, D. V.; ABE, A. S. Relationship of venom ontogeny and diet in *Bothrops*. **Herpetologica**, v. 55, n. 2, p. 200-204, 1999.

O gênero *Crotalus* está representado no Brasil por uma única espécie, *Crotalus durissus* (*C. durissus*), popularmente conhecida como cascavel (Figura 2), que apresenta uma ampla distribuição geográfica; é típica de campos abertos e sua área de ocorrência encontra-se em expansão devido aos desmatamentos e aumento de áreas destinadas à agropecuária (MARQUES; SAZIMA, 2003; MELGAREJO, 2003). É uma serpente vivípara que habita os cerrados do Brasil central, as regiões áridas e semiáridas do Nordeste, os campos e áreas abertas do Sul, Sudeste e Norte (MELGAREJO, 2003).

Figura 2 – *Crotalus durissus* (cascavel) – São Paulo – 2013

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2013).

2.2 MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS

O desenvolvimento embrionário dos vertebrados consiste em um processo biológico altamente complexo (SZABO, 1989c). Devido à delicada sincronização de eventos, aberrações ou erros podem ocorrer durante o período de organogênese, dando origem às malformações congênitas (SZABO, 1989c; KALTER, 2003).

Algumas destas malformações são primariamente genéticas, enquanto outras apresentam uma maior contribuição de fatores ambientais (BELLAIRS, 1981; SZABO, 1989c; SANT'ANNA et al., 2013). Entretanto, interações entre causas genéticas e ambientais

podem ocorrer de maneira ainda desconhecida, tornando difícil atribuir a etiologia a uma única fonte (SZABO, 1989c).

Em humanos, apenas 30-35% das malformações congênitas apresentam causas claramente definidas: cerca de 20% apresentam origem genética, 5-6% estão relacionados a defeitos cromossômicos, 4-5% ocorrem devido a infecções maternas e a doenças maternas não infecciosas, e 2-3% são atribuídas à ação de fármacos e poluentes ambientais (BRENT, 1976; KALTER; WARKANY, 1983). Em sua maioria (65-70%), as anomalias humanas ainda apresentam causas desconhecidas ou são atribuídas a situações multifatoriais complexas (SZABO, 1989c; GIUFRE; CORSELLO, 2012). Atualmente, as malformações são apontadas como a principal causa de morte fetal ou neonatal e estão presentes em cerca de 3% dos recém-nascidos (BELLAIRS, 1981; HASCHEK; ROUSSEAUX, 1998; KALTER, 2003; GIUFRE; CORSELLO, 2012).

Provavelmente, tal complexidade etiológica esteja também presente nos processos teratogênicos que envolvem os animais domésticos, de laboratório e selvagens (SZABO, 1989c). Assim, enquanto uma evidência causal definitiva não é descoberta, é concebível que a interação entre fatores genéticos e ambientais seja importante na incidência de anomalias em espécies animais (SZABO, 1989c).

A natureza e frequência das teratogênias nos animais diferem principalmente de acordo com a espécie, localização geográfica do indivíduo, ocorrência ou não de infecções maternas pré-natais e da condição nutricional materna (LEIPOLD; DENNIS; HUSTON, 1972; LEIPOLD, 1978).

No que se refere à forma de apresentação, as anomalias podem ser macroscópicas ou microscópicas, presentes em qualquer tipo de tecido ou órgão (WARKANY, 1947). Porém, em todas as espécies estudadas, os sistemas mais comumente acometidos compreendem os nervoso central, esquelético e muscular (LEIPOLD; DENNIS; HUSTON, 1972; LEIPOLD, 1978).

A ocorrência das malformações congênitas geralmente é incompatível com um período de vida prolongado em animais (BELLAIRS, 1981; HASCHEK; ROUSSEAUX, 1998; KALTER, 2003). Assim, sua incidência deve ser considerada como fator importante na formulação de planos para a conservação de espécies selvagens em populações de cativeiro e vida livre (JONES, 1980).

2.2.1 Malformações congênitas em répteis

Uma ampla variedade de teratogênias é observada em répteis, principalmente nas espécies que compreendem a ordem Squamata (BELLAIRS, 1991). Malformações nestes animais, assim como em outros vertebrados, podem surgir devido a fatores genéticos e/ou ambientais (BELLAIRS, 1981; FRYE, 1991c).

O *pool* genético de algumas populações de répteis apresenta-se severamente restrito ou concentrado devido a limitações geográficas, como ilhas, ou ao isolamento decorrente da fragmentação de habitats causada pela ação antrópica (FRYE, 1991c; TÓTH et al., 2005). Ainda, muitas espécies se reproduzem por partenogênese, originando indivíduos geneticamente semelhantes, o que contribui para a expressão de genes promotores de malformações (BILLY, 1986; FRYE, 1991). Os embriões teratogênicos produzidos por lagartos partenogenéticos da espécie *Lacerta saxicola* e *Lacerta unisexualis* são bons exemplos do efeito genético na expressão de teratogênias (BELLAIRS, 1981; FU et al., 1998).

No quesito ambiental, temperatura e umidade são apontadas como os principais fatores indutores no desenvolvimento de anomalias, embora contaminantes (principalmente defensivos agrícolas) e infecções também sejam citados como causas ambientais importantes (BELLAIRS, 1981; WALLACH, 2007; JOHNSON et al., 2010).

Os répteis se reproduzem por oviparidade ou viviparidade, ambas empregando uma forma simples de placentação, o que favorece a influencia de agentes ambientais externos (meio ambiente ou corpo materno) sobre o desenvolvimento embrionário (FRYE, 1991c).

Em lagartos vivíparos da espécie *Eremias multiocellata*, a temperatura ambiental em faixas subótimas e supraótimas, durante o período inicial do desenvolvimento embrionário, promoveu alterações significativas em vários traços biométricos da prole, incluindo: alterações no comprimento de cauda, dos membros anteriores e posteriores, e no tamanho da cabeça (XUE-FENG et al., 2001). De forma semelhante, Webb e Manolis (1998) relatam que altas temperaturas de incubação (35°C) durante os primeiros estágios do desenvolvimento embrionário causaram várias anormalidades de coluna, presença de cauda enrodilhada e deformidades de crânio em *Crocodylus porosus* e *Crocodylus johnsoni*. As altas temperaturas parecem comprometer o desenvolvimento ósseo por meio da aceleração dos processos de ossificação do embrião, resultando em malformações (WEBB; MANOLIS, 1998).

Segundo Huchzermeyer (2003), a desnutrição materna associada à ausência de determinadas vitaminas, também induz a presença de malformações em embriões de crocodilianos.

De forma geral, alterações fenotípicas grosseiras ou bizarras parecem apresentar maior correlação com causas ambientais, enquanto anomalias mais discretas, como a alteração de padrões de coloração, estão relacionadas à manifestação de genes autossômicos recessivos (BROWDER, 1972; BECHTEL; BECHTEL, 1989; FRYE, 1991c; SILVA; ASSIS; QUINTELA, 2010).

Em serpentes, algumas anomalias são descritas em literatura como: albinismo, bicefalia, hidrocefalia, braquignatia, fendas labiais, micrognatia, malformações de cabeça, esquistossomia, cauda enrodilhada, cauda incompleta, nanismo, anoftalmia, microftalmia, buftalmia, ciclopia, fusão e heterotopia de escamas e deformações de coluna (cifose, escoliose e lordose) (PENDELEBURY, 1976; BELLAIRS, 1981; FEDERSONI, 1981; ANDRADE; ABE, 1993; WALLACH, 2007; SANT'ANNA et al., 2013).

Em menor frequência, malformações viscerais também são citadas, envolvendo deformidades em coração, rins, estômago, esôfago, fígado, vesícula biliar e traquéia (SCOTT, 1925; ÓROS et al., 1997; JENSEN; WANG, 2009; PALMIERI et al., 2013).

Em estudo realizado por Sant'Anna et al. (2013), as malformações congênitas estiveram presentes em cerca de 3% dos nascimentos em serpentes da espécie *B. jararaca* e *C. durissus* ocorridos no Instituto Butantan, entre os anos de 2007 e 2012.

2.2.1.1 Anomalias de pigmentação

As anomalias de pigmentação variam desde a ausência total de pigmentos (albinismo verdadeiro) até o acúmulo extremo de melanina (melanismo) (VILLA, 1981; SMITH, 1983). São encontradas na maioria das espécies de répteis, com maior frequência em serpentes e crocodilianos (PREZ-HIGAREDA, 1980; MARION; COX, 1984; HUCHZERMEYER, 2003; KRECSÁK, 2008).

Apesar de constituírem anomalias de baixa interferência direta, alterações de pigmentação influenciam substancialmente na sobrevivência de indivíduos em vida livre (FRYE, 1991c). Assim como em qualquer outro grupo animal, os padrões de pigmentação nos répteis foram fortemente influenciados pela capacidade de camuflagem frente aos seus predadores e

presas, neste contexto, alterações nos padrões de coloração comprometem a camuflagem, tornando os indivíduos acometidos mais susceptíveis à predação, e prejudicando a estratégia de caça de espécies predadoras (JACKSON et al., 1976).

Em serpentes jovens da espécie *B. jararaca*, a ponta da cauda mais clara, juntamente com a manobra de engodo caudal (movimentos sinuosos e ondulações da ponta da cauda, que mimetizam os movimentos de uma larva), funcionam como atrativo para pequenas presas (HARTMANN; HARTMANN; GIASSEN, 2003). Assim, a presença de anomalias de pigmentação nestes animais poderia influenciar negativamente o sucesso na apreensão de alimentos em vida livre.

Em relação a processos fisiológicos, a pigmentação é citada como uma propriedade física que influencia diretamente a temperatura corpórea dos animais ectotérmicos (FORSMAN et al., 2002; GROSS; SCHMOLZ; HILKER, 2004). Em estudo realizado com serpentes da espécie *Elaphe quadrivirgata*, os padrões melânicos proporcionaram uma temperatura corpórea ótima em menor tempo, quando comparado a animais que apresentaram padrões estriados de pigmentação, o que demonstra a importância da coloração no processo de termorregulação (TANAKA, 2005).

Em sua grande maioria, as anomalias de pigmentação em répteis apresentam causa genética (BECHTEL; BECHTEL, 1962; KRECSÁK, 2008). Entretanto, em algumas espécies de crocodilos criadas em cativeiro, a ocorrência de temperaturas ambientais próximas aos 33°C no período inicial de incubação dos ovos também promoveram aumento na incidência de padrões incomuns de coloração em recém-nascidos (HUCHZERMEYER, 2003).

Devido a influência na sobrevivência em ambiente natural, répteis portadores de anomalias de pigmentação são raramente documentados em vida livre (FRYE, 1991c).

2.2.1.2 Malformações e anomalias de escamas

Alterações no número e na localização das escamas da pele, carapaça ou plastrão são comumente descritas em serpentes e quelônios (FRYE, 1991c). O mecanismo exato pelo qual estas anomalias se desenvolvem ainda não está bem definido, porém algumas hipóteses são propostas (FRYE, 1991c).

Fox (1948) observou que serpentes da espécie *Thamnophis elegans* nascidas de ovos incubados em baixas temperaturas apresentaram menor quantidade de fileiras de escamas

longitudinais, quando comparado a indivíduos que foram incubados em temperaturas ótimas para a espécie. Em quelônios, de forma contrária, estas anomalias parecem surgir em embriões submetidos a altas temperaturas durante as primeiras fases do desenvolvimento (FRYE, 1991c).

O ressecamento dos ovos de algumas espécies de cágados, durante o período inicial de desenvolvimento embrionário, também parece estar relacionado a uma maior incidência de anomalias nos escudos que constituem a carapaça e o plastrão, demonstrando uma possível participação da umidade ambiental na apresentação destas malformações (BELLAIRS, 1981).

Ainda, causas genéticas foram descritas para heterotopia de escamas em quelônios e serpentes consanguíneas das espécies *Xerobates agassizi* e *Elaphe guttata*, respectivamente (FRYE, 1991c).

Na maioria dos casos descritos, as anomalias de escamas são discretas e não apresentam grandes prejuízos ao indivíduo acometido (FRYE, 1991c).

2.2.1.3 Bicefalia

O termo bicefalia se refere a uma malformação congênita caracterizada pela presença de duas cabeças em um único indivíduo. Portadores deste tipo de anomalia têm sido descritos em mamíferos, inclusive humanos (WU et al., 2002) e répteis (lagartos [PLETICHA, 1968], quelônios [DIONG; TAN; LEH, 2003], geckos [HOLFERT, 1999]), sendo frequente em serpentes (BELLUOMINI, 1959; CUNHA, 1968; LEMA, 1982; MARYAN, 2001; HOSER; GIBBONS, 2003).

Com relação à sua causa, Newman (1917)⁴ apud Frye (1991c, p. 401), afirma que a bicefalia pode ser o resultado de períodos ocasionais de anóxia ou de alterações bruscas de temperatura durante o desenvolvimento embrionário dos répteis, o que resulta em um cessar temporário ou em um retardamento radical do seu desenvolvimento, interferindo diretamente no estágio de clivagem e gastrulação do embrião (BELLAIRS, 1971⁵ apud FRYE, 1991c, p. 401).

⁴NEWMAN, H. H. (Ed.) **The biology of twins (mammals)**. Chigado: Chigado University press. 1917, 220 p.

⁵BELLAIRS, R. **Developmental processes in higher vertebrates**. London: Logos press, 1971.

No que diz respeito à anatomia interna, Brongersma (1952)⁶ apud Bellairs (1981, p. 473) compilou as características anatômicas de 17 serpentes, de várias espécies, portadoras de bicefalia. Sete delas apresentavam dois corações, às vezes parcialmente fusionados ou com comunicações entre os grandes vasos. A maioria apresentava também esôfago e estômago duplicados.

A transposição anatômica de vísceras e órgãos internos também é relativamente comum (FRYE, 1991c) em animais bicefálicos. A duplicação dos lobos hepáticos e do pâncreas já foi observada, porém em menor frequência (FRYE, 1991c).

Há relatos de espécimes portadores de bicefalia que sobreviveram por vários anos em cativeiro. Como exemplo a literatura cita a serpente da espécie *Pituophis melanoleucus* que ficou exposta durante duas décadas no zoológico de Washington (FRYE, 1991c).

As taxas de bicefalia em serpentes em cativeiro parecem ser dez vezes mais altas que o estimado para as populações selvagens (WALLACH, 2003). Em estudo realizado no Instituto Butantan entre os anos de 2007 e 2012, por Sant'Anna et al. (2013), a incidência da bicefalia em filhotes nascidos de mães de vida livre representou 3,2% das teratogênias identificadas em serpentes da espécie *B. jararaca*.

Em vida livre, os relatos sobre répteis com bicefalia são raros, provavelmente pela sua maior susceptibilidade à predação e pela maior dificuldade apresentada por estes animais no processo de aquisição de alimentos (BELLAIRS, 1981).

2.2.1.4 Deformidades de coluna

As deformidades de coluna nos répteis, assim como em outros vertebrados, são classificadas em escoliose (desvio lateral da coluna vertebral), cifose (aumento anormal da convexidade posterior da coluna vertebral) e lordose (curvatura côncava anormal da coluna vertebral), e suas interações em cifoescoliose e cifolordose (SANT'ANNA et al., 2013). São malformações comumente descritas em lagartos e serpentes, porém com menor frequência em quelônios e crocodilianos (FRYE; DUTRA, 1973; DUDA; GUPTA, 1977).

As anomalias de coluna podem estar presentes logo ao nascimento ou se tornarem evidentes ao longo da vida do indivíduo (FRYE, 1991c). Para Ahboucha e Gamrani (2001),

⁶ BRONGERSMA, L. D. *Proc. K. ned. akad. wet.* v. 55, (C), p. 49-61, 1952..

malformações axiais neonatais estão relacionadas a disfunções do órgão subcomissural, uma glândula neuronal localizada no topo do diencéfalo, importante no controle da morfogênese do esqueleto durante a fase de organogênese embrionária. Lesões tardias provavelmente são decorrentes de alterações ambientais (alterações bruscas de temperatura, trauma físico ou dieta), ou ainda como resultado de manifestações tardias de genes subletais (BELLAIRS, 1981).

Em estudo realizado no Instituto Butantan por Sant'Anna et al. (2013), as malformações de coluna foram as mais frequentes em filhotes teratogênicos de serpentes das espécies *B. jararaca* e *C. durissus*, provenientes de mães recém-capturadas da natureza. Neste estudo, a incidência de cifose, escoliose e lordose, representou respectivamente, 64%, 32% e 12% das malformações encontradas em *B. jararaca* e 75%, 30,6% e 11,1% das encontradas em *C. durissus*. Segundo Sant'Anna et al. (2013), as malformações de coluna comprometem a habilidade de eclosão e a função locomotora dos recém-nascidos.

Lesões discretas de coluna localizadas na porção posterior do corpo das serpentes parecem não impedir o desenvolvimento do indivíduo em vida livre. Esta suposição se sustenta pelo encontro, mesmo que raro, de alguns animais adultos em natureza apresentando cifose ou algum tipo discreto de escoliose (SANT'ANNA et al., 2013).

De forma concomitante às anomalias de coluna, a maioria das serpentes estudadas por Riches (1967); Pendlebury (1976) e Sant'Anna et al. (2013), apresentou também fusão das escamas ventrais, distrofia da musculatura periaxial e inflamações em medula espinhal (FRYE, 1991c).

2.2.1.5 Malformações ou agenesia da cauda

Os répteis podem apresentar diferentes tipos de malformações em cauda, como a presença de dobras laterais permanentes, torções acentuadas, ondulações, enrodilhamento, encurtamento ou a ausência completa da mesma (KAR; BUSTARD, 1982; HIBBERD, 1996; TROIANO, ROMÁN, 1996; WEBB; MANOLIS, 1998). Dentre as formas de apresentação, a agenesia de cauda é a de ocorrência mais rara, descrita em quelônios e crocodilianos (MATHUR; GOEL 1974; FRYE, 1991c; HUCHZERMEYER, 2003).

De forma complementar, Frye (1991c) cita a existência de uma população de cascavéis-do-pacífico (*Crotalus oreganus*) que apresenta ausência de chocalho, acreditando-

se que isso se deva à causas genéticas (FRYE, 1991c). Além da possível etiologia genética, existem estudos que apontam a temperatura anormal de incubação, nas fases iniciais do desenvolvimento embrionário, como uma possibilidade causal para estas malformações (FRYE, 1991c).

De acordo com a espécie envolvida, a agenesia da cauda pode representar fator limitante à sobrevivência de animais em vida livre (HUCHZERMEYER, 2003; SANT'ANNA et al., 2013). Em crocodilianos, esta anomalia inviabiliza a capacidade de natação, ocasionando a morte dos indivíduos acometidos por afogamento (HUCHZERMEYER, 2003).

A incidência de cauda enrodilhada em serpentes da espécie *B. jararaca* esteve em 13,7% dos indivíduos estudados por Sant'Anna et al. (2013), no Instituto Butantan. Nestas serpentes, esta anomalia prejudica a manobra de engodo, o que pode comprometer a eficiência na obtenção de alimentos, influenciando a sobrevivência dos indivíduos no meio-ambiente (SANT'ANNA et al., 2013).

2.2.1.6 Nanismo

Segundo Frye (1991c), a ocorrência de nanismo em répteis é rara. Tal condição é descrita em apenas cinco situações, duas acometendo cágados da espécie *Trachemys scripta elegans* (FRYE; CARNEY, 1974; FRYE, 1981), duas em jabutis consanguíneos da espécie *Xerobates agassizi* (FRYE, 1991c) e uma em serpente da espécie *B. jararaca* (SANT'ANNA et al., 2013).

Nos dois cágados descritos por Frye (1991c), a cabeça e os membros pareciam desproporcionalmente maiores em relação ao tamanho de suas carapaças e plastrões. Além disso, os crânios eram notadamente braquicefálicos (FRYE, 1991c). Curiosamente, ambos mantiveram uma aparência normal até, aproximadamente, um ano e meio de idade (FRYE, 1991c).

Lâminas histológicas provenientes de um dos indivíduos citados acima revelaram grave deficiência mineral óssea, os quais apresentavam de forma concomitante hiperplasia cartilaginosa das epífises (FRYE, 1991c). Estes cágados apresentaram características semelhantes às formas de nanismo acondroplástico humano e a causa do processo parece estar relacionada a fatores genéticos (FRYE, 1991c).

Em outra situação, dois jabutis da espécie *Xerobates agassizi* foram caracterizados por apresentarem cabeça e membros de tamanhos normais, porém com carapaças e plastrões marcadamente menores (FRYE, 1991c). Em estudo recente realizado por Sant'Anna et al. (2013), há descrição de uma serpente recém-nascida da espécie *B. jararaca* portadora de nanismo, representando 1,1 % das malformações encontradas em filhotes desta espécie no Instituto Butantan, no período entre os anos de 2007 a 2012. Em literatura não há relatos sobre a ocorrência de répteis anões em vida livre.

2.2.1.7 Esquistossomia

A esquistossomia compreende o tipo mais severo de malformação congênita que afeta a cavidade celomática. Esta anomalia se caracteriza pelo fechamento impróprio da parede celomática, podendo ocasionar a exposição das vísceras do indivíduo acometido (SZABO, 1981a).

Anomalias desta natureza parecem ser causadas pela interrupção ou interferências no processo de recolhimento das vísceras para o interior da cavidade do embrião durante a organogênese. O porquê desta falha ainda não está claramente definido, embora alterações na maturação do intestino fetal e no desenvolvimento do peritônio sejam fatores sugestivos (SZABO, 1981a). Fatores que interferem na fibrose e fusão da linha alba também podem estar envolvidos na causa destas malformações (SZABO, 1981a).

Raros são os casos de esquistossomia descritos em répteis. Frye (1991c) descreve um filhote de serpente da espécie *Heterodon platyrhinos* que apresentava uma grande abertura na porção anterior do ventre, por onde protruía o coração e os grandes vasos. Barten (1988, comunicação pessoal) apud Frye (1991c, p. 408) relata o caso de sucessivas ninhadas que apresentavam esquistossomias e eram provenientes de um mesmo casal de serpentes da espécie *Elaphe guttata*.

Devido à sua característica deletéria, não há relatos de répteis portadores de esquistossomia em ambiente natural.

2.2.1.8 Malformações oculares

As malformações oculares em répteis podem se apresentar como uma discreta redução no tamanho do globo ocular, com ausência de prejuízos à visão, ou na forma de alterações severas em que a visão estará ausente (BELLAIRS, 1981; FRYE, 1991c).

Embora o mecanismo de sua formação seja complexo, grande parte das teratogênias oculares apresenta causa genética. Em sua maioria compreendem alterações raras que parecem ocorrer de forma ocasional, sendo talvez o resultado de combinações genéticas com condições ambientais desfavoráveis, que influenciam o desenvolvimento das estruturas oculares (SZABO, 1981d).

Entre os anos de 1940 e 1950, um grupo de serpentes da espécie *Pituophis melanoleucus melanoleucus*, com ausência de globos oculares, foi mantida junto à coleção de répteis do Zoológico de San Diego (ENSLEY et al., 1978). Todos os indivíduos apresentavam algum grau de parentesco, o que confirma a forte suspeita sobre a presença de genes carreadores dessas anomalias em serpentes (ENSLEY et al., 1978; FRYE, 1991c).

Uma condição isolada de exoftalmia foi descrita em uma víbora (*Bitis nasicornis*) por Cooper (1975). Um dos olhos desta serpente se apresentava distendido devido à presença de estruturas semelhantes a cistos que se protruíam a partir da conjuntiva ocular. Nenhum sinal de infecção foi identificado neste indivíduo e a lesão foi considerada uma malformação congênita verdadeira.

Em serpentes, a ausência total de visão parece não interferir na capacidade de localização, apreensão e ingestão de presas. Um exemplo citado por Frye (1991c) compreende uma serpente da espécie *Python molurus* apresentando anoftalmia bilateral, que se alimentava normalmente e não apresentava qualquer outra alteração comportamental decorrente da ausência de visão.

2.2.1.8.1 Ciclopia

A incidência de ciclopia em répteis é raramente citada em literatura (FRYE, 1991c). Bellairs (1965) descreveu o caso de um lagarto cíclope da espécie *Lacerta lepida*. Neste indivíduo os globos oculares se apresentavam juntos e localizados na região rostral do crânio,

alterando a conformação das narinas, que apresentavam sua abertura na superfície ventral da coana. Esta forma de anomalia satisfaz os critérios de arinencefalia, caracterizado pelo encurtamento da maxila e pela ausência de narinas externas (FRYE, 1991c).

Alguns fatores sabidamente indutores de ciclopia em répteis incluem contaminação ambiental por sal de magnésio, lítio e cádmium; radiação ionizável; alterações na temperatura de incubação do embrião e defeitos genéticos (ALDEMAN, 1936; BELLAIRS, 1965). Em mamíferos, a ingestão de algumas plantas do gênero *Veratrum* sp. apresenta alta correlação com a incidência de ciclopia na prole (FRYE, 1991c).

2.2.1.9 Malformações cefálicas

As malformações cefálicas mais comumente descritas em répteis compreendem: braquignatia (encurtamento de maxila), prognatismo (proeminência mandibular), agnatia (ausência de mandíbula) e fendas palatina e labial (BELLAIRS; GAMBLE, 1960; BELLAIRS, 1965; EWERT, 1979).

O prognatismo é comumente descrito em filhotes de crocodilos da espécie *Crocodylus johnsoni* que foram submetidos a altas temperaturas durante os períodos iniciais da incubação embrionária (WEBB; MANOLIS, 1998).

Hall (1985) descreve casos de braquicefalia em crocodilos da espécie *Crocodylus novaeguineae*. De forma complementar, Kälín (1936)⁷, apud Huchzermeyer (2003, p. 152), também relata a incidência desta deformidade em *Alligator mississippiensis*, *Crocodylus niloticus* e *Crocodylus porosus*.

A formação de fendas palatinas e labiais são descritas em embriões de lagartos da espécie *Lacerta vivipara* e *L. lepida* e em serpentes da espécie *Eunectes murinus*, *Natrix natrix* e *Vipera berus* (BELLAIRS; BOYD, 1957; BELLAIRS; GAMBLE, 1960; BELLAIRS, 1965). Nestas citações, lesões unilaterais e bilaterais foram descritas. Em alguns casos, esta anomalia aparece de forma conjunta com braquignatia e microftalmia (BELLAIRS, 1981).

A anatomia da fenda palatina nos répteis é similar à encontrada em anomalias humanas (BELLAIRS, 1981). O órgão vômero-nasal (órgão de Jacobson), localizado

⁷ KÄLIN, J. A. Über skelettanomalien bei crocodiliden. *Zeitschrift für Morphologie und Oekologie der Tiere*, v. 32, p. 327-347, 1936.

medialmente na fenda palatina de alguns indivíduos descritos, se apresenta um pouco menor do que o órgão contralateral não afetado (BELLAIRS, 1981).

Fendas labiais foram descritas por Fox, Gordon e Fox (1961) em serpentes jovens da espécie *Thamnophis elegans* provenientes de fêmeas mantidas em baixas temperaturas durante o período gestacional. De forma contrária, a presença destas anomalias foi descrita em filhotes de jabutis da espécie *Xerobates agassizii* incubados em altas temperaturas durante o processo de desenvolvimento embrionário (FRYE, 1991c). Tais descrições sugerem a influência da temperatura ambiental na incidência destas teratogênias. Serpentes portadoras de fendas palatinas em cativeiro parecem não apresentar prejuízos em suas habilidades de caça e apreensão da presa (BELLAIRS, 1981).

Dean, Glenn e Straight (1980) relatam que seis de sete filhotes de uma mesma ninhada de serpentes da espécie *Crotalus viridis* foram caracterizados pela presença de fendas palatinas e labiais bilaterais. De forma curiosa, todos os indivíduos acometidos eram fêmeas (DEAN; GLENN; STRAIGHT, 1980).

Malformações encefálicas, como hidrocefalia e meningoencefalocele foram primeiramente descritas em répteis por Hibberd (1996) e Webb e Manolis (1998). Em estudo recente realizado por Sant'Anna et al. (2013), as malformações cefálicas representaram 5,3% das malformações presentes em serpentes da espécie *B. jararaca* nascidas no Instituto Butantan, entre os anos de 2007 e 2012. Malformações cefálicas específicas como hidrocefalia, braquignatia, fenda labial e encurtamento da maxila, representaram respectivamente 2,1; 9,5; 2,1 e 1,1% das malformações identificadas em filhotes de serpentes da espécie *B. jararaca*. No mesmo estudo, braquignatia e lábio leporino estiveram presentes em 5,6 e 2,8%, respectivamente, das anomalias encontradas em filhotes de serpentes da espécie *C. durissus* (SANT'ANNA et al., 2013).

2.2.1.10 Malformações dos órgãos internos

Malformações internas não são frequentemente descritas em répteis, entretanto alguns casos isolados são relatados.

Em crocodilos-do-Nilo (*C. niloticus*), as malformações internas já reportadas incluem alças extras no circuito duodenal e duplicação da vesícula biliar (HUCHZERMEYER, 2003).

Segundo Huchzermeyer (2003) nenhuma destas malformações representa sérios problemas aos crocodilianos.

Teratogênias envolvendo deformidades em coração, rins, estômago, fígado e traqueia são descritas em serpentes e quelônios (SCOTT, 1925; ÓROS et al., 1997; JENSEN; WANG, 2009; PALMIERI et al., 2013). Jensen e Wang (2009) descrevem duas ocorrências de malformações cardíacas, com presença de ventrículos bífidos, em serpentes jovens da espécie *Python regius*. Nos dois indivíduos, todas as câmaras cardíacas apresentavam-se aumentadas e com formato anormal, o que causava alterações nas pressões sanguíneas, sistêmica e pulmonar. Após eutanásia, o acesso interno aos ventrículos revelou profunda alteração do septo cardíaco. Esta anomalia desencadeou a presença de outras alterações, como a projeção lateral do orifício atrioventricular para esquerda e direita, com concomitante distorção das válvulas atrioventriculares e espessamento da porção basal do septo atrial (JENSEN; WANG, 2009).

Em outro exemplo, Palmieri et al. (2013) descrevem o caso de um jabuti bicefálico com 22 dias de idade, da subespécie *Testudo graeca ibera*, que morreu após histórico de letargia, anorexia e aquesia. Exames radiográficos e ultrassonográfico transplastral, realizados no animal ainda vivo, revelaram a presença de dois estômagos simétricos e dois corações assíncronos. Estes achados foram confirmados pelo exame necroscópico. Esôfago, fígado, vesícula biliar e traqueia também se apresentavam duplicados. Outros achados incluíram atresia de válvula pilórica no estômago esquerdo, estenose focal do cólon transversal e hipoplasia hepática.

2.3 HISTOLOGIA COMPARADA DOS RÉPTEIS

A comparação entre tecidos saudáveis e alterados é essencial para a compreensão acurada das alterações morfológicas apresentadas por tecidos lesionados. No campo da histologia comparada dos répteis, alguns trabalhos foram publicados descrevendo a morfologia histológica de órgãos isolados, entretanto referências com informações compiladas são raras (FRYE, 1991b; JACOBSON, 2007).

2.3.1 Sistema tegumentar

O sistema tegumentar da maioria dos répteis consiste em uma cobertura de placas e escudos bem desenvolvidos e queratinizados, que se subdividem, como nos outros animais, em epiderme (camada externa) e derme (camada interna) (FRYE, 1991b; JACOBSON, 2007).

Este tipo de tegumento distribui a queratina rígida e impermeável na forma de pequenas placas denominadas escamas, tornando possível a maleabilidade da pele (JACOBSON, 2007).

A epiderme se subdivide em três subcamadas, denominadas β -queratina, mesos, e α -queratina. A camada constituída por β -queratina determina a forma e provê rigidez ao tegumento, enquanto a α -queratina atribui flexibilidade e distensão (JACOBSON, 2007). Quando uma serpente ingere uma presa, por exemplo, a distensão do tegumento e o espaçamento entre as escamas adjacentes são alcançados devido à natureza e às propriedades da α -queratina (JACOBSON, 2007). A camada mesos consiste em uma importante barreira contra a perda de líquidos e se apresenta mais espessa na porção interna da escama, quando comparada à porção externa (LANDMANN, 1979).

Nas serpentes e em alguns lagartos, a troca da epiderme ou ecdise é realizada de forma única, enquanto em quelônios e crocodilianos, este processo é realizado em fragmentos (FRYE, 1991b). Nas serpentes, heterófilos podem ser vistos migrando através da epiderme durante as fases finais da ecdise (JACOBSON, 2007).

Comparado aos anfíbios, os répteis apresentam poucas glândulas associadas à pele. Glândulas de cheiro estão presentes na cloaca de muitas espécies e na região submandibular dos quelônios (JACOBSON, 2007).

Uma membrana basal separa a epiderme da derme subjacente, onde se encontra um complexo sistema de pigmentação que envolve melanóforos contendo melanina, eritróforos e xantóforos contendo pteridinos e carotenoides, e ainda iridóforos contendo placas refletoras de guanina, adenina, hipoxantina e ácido úrico (ALEXANDER; FAHRENBACK, 2005). O arranjo destas células, em sentido vertical ou horizontal, irão determinar a coloração do animal e o padrão de coloração da pele (JACOBSON, 2007).

2.3.2 Sistema muscular

Histologicamente, a musculatura esquelética dos répteis é similar à encontrada em aves e mamíferos (JACOBSON, 2007). Entretanto, enquanto nos répteis (como nas aves e nos anfíbios) a maioria das fibras musculares é classificada como tônica, nos mamíferos as fibras são classificadas como fásicas (GUTHE, 1981; AUGHEY; FRYE, 2001e). Morfologicamente, fibras tônicas apresentam um tamanho menor, fibrilas menos distintas e menor quantidade de retículo sarcoplasmático (JACOBSON, 2007).

Como nos mamíferos, as fibras musculares dos répteis são categorizadas em brancas e vermelhas (JACOBSON, 2007). Colorações histoquímicas para enzimas específicas, como a succínica-desidrogenase e colorações para marcação de hemoglobina, podem ser utilizadas para distinguir estas duas categorias de fibras (JACOBSON, 2007).

A musculatura lisa apresenta como característica principal a ausência de estriações transversais. Além disso, a distribuição dos núcleos pelo tecido muscular liso é realizada de forma mais aleatória, quando comparada às musculaturas estriadas (FRYE, 1991b).

Quantidades substanciais de musculatura lisa são encontradas no sistema respiratório superior e inferior, trato gastrintestinal, sistema vascular, bço, e sistema gênito-urinário dos répteis (FRYE, 1991b).

2.3.3 Sistema cardiovascular

O coração nos répteis é menos compacto que nas aves e mamíferos, apresentando feixes musculares dispostos em várias direções e separados por lacunas, com trabéculas e proeminências que se projetam para a luz cardíaca. Esta arquitetura é responsável pela subdivisão do coração reptiliano em três câmaras: *cavum pulmonale*, *cavum venosum* e *cavum arteriosum* (FARRELL; GAMPERL; FRANCIS, 1998).

Histologicamente, as fibras do miocárdio apresentam estriações transversais, quando seccionadas em sentido longitudinal (Figura 3). Os núcleos são numerosos e localizados em posição central na célula, sendo esta uma das principais características que as diferenciam das fibras musculares esqueléticas (FRYE, 1991b).

As células de Purkinje podem ser encontradas em agregados esféricos ou ovais na base da válvula atrioventricular (AUGHEY; FRYE, 2001a). Embora estas células sejam visualizadas em cortes corados com hematoxilina e eosina, são mais facilmente demonstradas pela coloração de tricrômio (AUGHEY; FRYE, 2001a). Feixes nervosos provenientes do sistema de condução elétrica do miocárdio podem ser encontrados pela musculatura cardíaca, sendo particularmente mais numerosos no centro das paredes ventriculares (FRYE, 1991b).

As válvulas atrioventriculares destes animais apresentam características histológicas semelhantes às encontradas em aves e mamíferos, compostas por células irregulares, estreladas ou multipolares, arrançadas de forma frouxa em um estroma constituído por delicadas fibras de colágeno (FRYE, 1991b).

2.3.4 Sistema esquelético

Como em mamíferos, o esqueleto dos répteis apresentam ossos compactos (corticais) e esponjosos (FRYE, 1991b). Os ossos compactos são envolvidos em sua superfície externa, por um denso, vascularizado e innervado periósteo, enquanto as cavidades medulares são revestidas por um endósteo delicado (FRYE, 1991b).

A principal característica dos ossos esponjosos é a presença de espículas ósseas que se estendem para o interior do osso. Nos espaços criados por esta forma de arquitetura, encontram-se agregados de medula óssea com tecidos hematopoiéticos e gordura. O osso esponjoso é revestido por uma fina camada de endósteo vascularizado, geralmente mais delicado que o periósteo presente na superfície dos ossos compactos (FRYE, 1991b). Um corte histológico de coluna vertebral de *C. durissus* é ilustrado na figura 4.

2.3.5 Sistema digestório

A histologia da cavidade oral dos répteis é variável entre os diferentes grupos. Na maioria das ordens, a cavidade é revestida por uma membrana mucosa composta por um epitélio celular escamoso não queratinizado, células epiteliais ciliadas, células caliciformes e

epitélio celular colunar, com glândulas linguais, sublinguais e labiais espalhadas de forma difusa pela mucosa (JACOBSON, 2007).

A língua se apresenta musculosa e coberta por um epitélio escamoso estratificado geralmente muito pigmentado nos indivíduos da ordem Squamata (FRYE, 1991b). Nas serpentes, o epitélio da língua é aglandular, entretanto, a mucosa lingual é lubrificada e umedecida pelas secreções de glândulas mucosas situadas na superfície luminal da bainha lingual (FRYE, 1991b; AUGHEY; FRYE, 2001b; JACOBSON, 2007).

As glândulas salivares compreendem estruturas lóbulo-alveolares bem desenvolvidas. Seus ácinos são revestidos por um epitélio cuboidal glandular com núcleos basais que podem parecer achatados (FRYE, 1991b). Em serpentes peçonhentas, o tecido de algumas glândulas salivares é modificado para secretar toxinas ricas em proteínas, contendo componentes enzimáticos e neurotóxicos (Figura 5) (AUGHEY; FRYE, 2001b).

O esôfago dos répteis apresenta características morfológicas semelhantes às encontradas em aves e mamíferos (FRYE, 1991b). Desta forma, é possível observar tecido conjuntivo fibrocolagenoso, lâmina própria, muscular da mucosa, tecido areolar frouxo e camadas circulares e longitudinais de musculatura estriada situadas adjacente à membrana basal epitelial (FRYE, 1991b). Em serpentes, a região esofágica posterior é revestida, primariamente por células caliciformes. Glândulas podem ser encontradas ao longo da submucosa em associação com tecidos linfoides. O esôfago das serpentes é muito fino, principalmente nas porções craniais, e muito distensível, adaptado à acomodação de presas grandes (JACOBSON, 2007). Na porção caudal ao coração, o esôfago se torna progressivamente mais muscular (JACOBSON, 2007).

A mucosa gástrica dos répteis se assemelha à dos mamíferos, exceto pela presença das células principais e das claras; células parietais estão ausentes (Figura 6) (AUGHEY; FRYE, 2001b).

O intestino delgado (Figura 7) não apresenta as glândulas de Brünners, responsáveis pela secreção de muco alcalino no duodeno de mamíferos (AUGHEY; FRYE, 2001b). Aglomerados linfoides estão dispersos por toda a extensão do trato gastrintestinal (FRYE, 1991b; AUGHEY; FRYE, 2001b; JACOBSON, 2007).

O intestino grosso se apresenta revestido por um epitélio colunar simples contendo abundante número de células caliciformes secretoras de mucina. Agregados linfoides aparecem em maior frequência no intestino grosso que no delgado que se estendem até a superfície luminal em alguns segmentos (FRYE, 1991b).

A cloaca terminal é revestida por um epitélio escamoso estratificado cornificado em algumas espécies, enquanto em outras sua mucosa se assemelha à encontrada nas porções finais do intestino grosso (FRYE, 1991b).

A arquitetura do fígado nos répteis apresenta uma menor organização em lóbulos, quando comparada às aves e mamíferos (FRYE, 1991b). Em serpentes, um arranjo radial das camadas hepáticas ao redor de uma veia central geralmente não é aparente. Não há uma separação lobular por um tecido conjuntivo, como comumente é visto no fígado de mamíferos. Assim, a periferia de um lobo pode ser definida pela presença dos ductos biliares, ramos de veias hepáticas e pequenos aglomerados de tecido conjuntivo (JACOBSON, 2007). Como em mamíferos, os cordões hepáticos são separados pelos sinusóides revestidos pelas células de Kupffer e células endoteliais. Em serpentes neonatas, assim como em aves recém-nascidas, a esteatose hepática (Figura 8) compreende um achado histológico comum, consequente à fase fisiológica de absorção vitelínica, em que há uma grande quantidade de material lipídico sendo absorvido e metabolizado (MCLELLAND, 1979).

O pâncreas nos répteis está localizado ao longo da borda mesentérica do duodeno (MILLER; LAGIOS, 1970). Na maioria das espécies apresenta íntima relação com o baço, sendo por vezes denominado espleno-pâncreas (Figura 9) (FRYE, 1991b; JACOBSON, 2007). O pâncreas exócrino consiste em ramificações tubulares contendo células epiteliais e grânulos de zimogênio. De forma contrária aos mamíferos, não há um segmento intercalado ou transicional entre a porção endócrina e exócrina. Assim, as ilhotas de Langerhans não apresentam um destaque acentuado do pâncreas exócrino. Em alguns répteis, ambos os citoplasmas das ilhotas de Langerhans e do pâncreas exócrino podem se corar de maneira eosinofílica pela técnica de hematoxilina e eosina.

2.3.6 Baço

O baço da maioria dos répteis é esférico, oval ou alongado em formato triangular, e histologicamente semelhante ao baço de aves e mamíferos (FRYE, 1991b). Consiste em uma polpa vermelha formada por cordões esplênicos e um endotélio de revestimento dos sinusóides, contendo eritrócitos e ocasionalmente linfócitos; e uma polpa branca contendo numerosos nódulos linfáticos e centros germinativos (FRYE, 1991b; AUGHEY; FRYE, 2001d). Estes nódulos geralmente circundam a arteríola esplênica e são caracterizados pela

presença de um colar germinativo de linfócitos pequenos, com uma grande e densa cromatina nuclear (FRYE, 1991b). Ocasionalmente, macrófagos são encontrados dentro dos centros germinativos (FRYE, 1991b). Granulócitos podem ser encontrados no parênquima esplênico, porém sem demais sinais de inflamação (JACOBSON, 2007).

Em alguns répteis o baço se apresenta de forma contínua ao pâncreas (FRYE, 1991b). Esta configuração é normal em muitos quelônios e em várias espécies de serpentes (FRYE, 1991b).

2.3.7 Sistema respiratório

A traqueia dos répteis apresenta características semelhantes às das aves e mamíferos, em que os anéis cartilagosos hialinos bem desenvolvidos dão sustentação à estrutura tubular (FRYE, 1991b). O lúmen traqueal é revestido por um epitélio colunar pseudoestratificado cilíndrico ciliado, com inúmeras células caliciformes secretoras de muco (FRYE, 1991b).

Os répteis apresentam um pulmão mais simples quando comparado aos mamíferos. Semelhante aos anfíbios, este pulmão é composto por uma série de “caselas” denominadas favéolos pulmonares (FRYE, 1991b). Os favéolos adjacentes são separados por septos de tecido conjuntivo contendo vasos sanguíneos e ocasionalmente agregados linfoides (Figura 10) (JACOBSON, 2007). Uma característica marcante do pulmão destes animais é a grande quantidade de musculatura lisa que sustenta a arquitetura pulmonar (FRYE, 1991b). Macrófagos pulmonares são comumente vistos em pequeno número (FRYE, 1991b). Os sacos aéreos, quando presentes, são revestidos por um epitélio cuboidal que se encontra sobre uma membrana basal delgada (FRYE, 1991b).

2.3.8 Sistema urinário

O tecido renal dos répteis é superficialmente semelhante ao encontrado em aves e mamíferos, porém com algumas diferenças notáveis (AUGHEY; FRYE, 2001g).

O néfron destes animais é anatomicamente dividido em glomérulo, porção primária e secundária de túbulos contorcidos proximais, túbulos contorcidos distais e túbulos coletores,

os quais drenam a urina até o ducto mesonéfrico (FRYE, 1991b). Uma das principais características que os diferencia dos néfrons mamíferos é a ausência da alça de Henle (FRYE, 1991b; AUGHEY; FRYE, 2001g; JACOBSON, 2007).

Histologicamente, os glomérulos são localizados dentro da porção cortical renal (Figura 11) (FRYE, 1991b). Os capilares contorcidos são circundados por células endoteliais e, ocasionalmente, por tecido conjuntivo (FRYE, 1991b; JACOBSON, 2007). Uma arteríola aferente sustenta cada glomérulo, originando a rede de capilares glomerulares (FRYE, 1991b). A cápsula de Bowman é constituída por um epitélio parietal externo e interno, sendo o espaço entre o tufo glomerular e a superfície epitelial interna da cápsula, denominado espaço glomerular ou espaço urinífero (FRYE, 1991b; JACOBSON, 2007). O ultrafiltrado plasmático ocupa este espaço e é drenado por túbulos proximais constituídos por um epitélio cuboide simples (FRYE, 1991b). As células dos túbulos contorcidos distais são similares às que revestem os túbulos proximais, sendo diferenciados apenas por apresentarem um maior diâmetro luminal (FRYE, 1991b). O aparelho justaglomerular compreende um epitélio simples de células basofílicas cuboides, situado de forma adjacente à arteríola aferente (FRYE, 1991b).

Machos sexualmente maduros de algumas espécies de serpentes e lagartos exibem uma hipertrofia do “segmento sexual”, constituído por células epiteliais renais que se alinham na porção caudal dos túbulos contorcidos distais (FRYE, 1991b; AUGHEY; FRYE, 2001g; JACOBSON, 2007). Estas células se tornam marcadamente colunares e hipertrofiadas, contendo numerosos grânulos citoplasmáticos eosinofílicos, secretados ou excretados para dentro dos túbulos renais (FRYE, 1991b). Esta alteração morfológica parece ser sazonal, coincidindo com o pico de atividade testicular (BURTNER; FLOYD; LONGLEY, 1965; BAUMAN; METTER, 1977). De forma curiosa, estes grânulos eosinofílicos são encontrados também na luz dos ductos deferentes de algumas espécies de lagartos (FRYE, 1991b). O papel reprodutivo desta alteração morfológica ainda não se encontra claramente elucidado.

As características histológicas dos ureteres e da vesícula urinária são semelhantes às dos mamíferos (AUGHEY; FRYE, 2001g). O lúmen é revestido por um epitélio de transição que se apresenta espesso em multicamadas quando a vesícula está vazia; e fino, distendido quanto a vesícula está repleta (AUGHEY, FRYE, 2001g).

Alguns répteis não apresentam vesícula urinária. Nestes casos, os resíduos urinários são transportados dos ureteres para uma região da cloaca denominada *urodeum* (AUGHEY; FRYE, 2001g). A urina pode ficar retida nesta câmara por intervalos de tempo variáveis,

enquanto a água é ativamente removida e “reciclada”. Após remoção hídrica, os resíduos de ácido-úrico são excretados na forma de uma pasta esbranquiçada (FRYE; AUGHEY, 2001g).

2.3.9 Sistema nervoso central

Diferentes terminologias têm sido utilizadas para dividir o cérebro dos répteis em sub-regiões (JACOBSON, 2007). Em sentido rostro-caudal, estas sub-regiões compreendem: prosencéfalo (bulbos e tratos olfatórios), *cerebrum* (telencéfalo), diencéfalo (epitálamo rostral, tálamo dorsal, tálamo ventral e hipotálamo), mesencéfalo (tubérculos quadriênios, tegumento, pedúnculos cerebrais e aqueduto de Silvos) e rombencéfalo (medula oblonga e ponte) (JACOBSON, 2007). Estas divisões podem ser identificadas macro e microscopicamente (JACOBSON, 2007).

O cérebro e a medula espinhal são estruturas nervosas envolvidas pelas meninges: *duramater*, camada mais externa, composta por tecido conjuntivo denso, carreando numerosos vasos sanguíneos; aracnoide, caracterizada por uma rede de fibras mais delicadas, penetrada por uma quantidade menor de vasos sanguíneos e *pia mater*, a camada mais profunda constituída por uma delicada e vascularizada túnica que permanece em contato íntimo com o cérebro (FRYE, 1991b). Entre as meninges, aracnoide e *pia mater* existe um espaço preenchido pelo líquido, denominado espaço subaracnoide.

A medula espinhal dos répteis, como nos demais vertebrados, possui uma substância branca externa e em uma substância cinzenta interna; quando vista em corte transversal, apresenta um desenho em “H” (Figura 12) (FRYE, 1991b; AUGHEY; FRYE, 2001f; JACOBSON, 2007). A substância cinzenta é dividida em cornos dorsais (porção menor) e cornos ventrais (porção maior), por onde passam os grandes neurônios motores (FRYE, 1991). Ao redor da substância cinzenta encontramos a substância branca, que consiste em um conjunto de células com funções de apoio, sustentação, isolamento elétrico e nutrição dos neurônios e gânglios (AUGHEY; FRYE, 2001f).

2.3.10 Olho

O olho das serpentes apresenta uma anatomia singular entre os répteis (JACOBSON, 2007). Acredita-se que esta singularidade seja o resultado evolutivo perante ancestrais com hábitos fossoriais (JACOBSON, 2007). Seguindo sua adaptação ao ambiente terrestre, as primeiras serpentes começaram a desenvolver sua anatomia óptica mais complexa (JACOBSON, 2007).

Atualmente, os olhos destes animais são cobertos por uma escama transparente denominada espectáculo (Figura 13). Embriologicamente formada pela fusão das pálpebras, o espectáculo é trocado juntamente com o restante da epiderme em cada ciclo de ecdise (JACOBSON, 2007).

Serpentes apresentam uma glândula de Harder bem desenvolvida, mas nenhuma glândula lacrimal (JACOBSON, 2007). Os ductos nasolacrimais comunicam o espaço subespectacular diretamente com a cavidade oral (JACOBSON, 2007). O ducto desemboca adjacente ao órgão vômero-nasal (órgão de Jacobson). O esfíncter da íris é formado por músculos estriados que respondem rapidamente aos estímulos de luz (JACOBSON, 2007). O reflexo consensual não pode ser provocado nestes animais (JACOBSON, 2007). A acomodação focal nas serpentes é realizada pela movimentação da lente devido à pressão exercida ao humor vítreo pelos músculos ciliados. A retina é avascular, sendo suprida pela coroide (JACOBSON, 2007). Cones e bastonetes variam em tipo e proporção, dependendo da espécie (JACOBSON, 2007).

2.4 OSTEOLOGIA COMPARADA DOS RÉPTEIS

Como nos demais vertebrados, o crânio dos répteis é composto pelo condrocrânio, esplancnocrânio e o dermatocrânio (ROMER, 1997). O dermatocrânio é o maior dos componentes e inclui os ossos nasais, pré-frontais, frontais e parietais. A pré-maxila, maxila e mandíbulas também são derivados do dermatocrânio. A mandíbula consiste nos seguintes ossos: dentário, esplenial, suprangular, coronóide, pré-articular e articular (ROMER, 1997; JACOBSON, 2007). Todos os ossos mandibulares são confinados ao osso dentário. O quadrado (parte do crânio que contém a superfície articular da mandíbula) e o estribo (osso

que compreende o ouvido médio) são derivados do esplancnocrânio. Dentro de cada Ordem, estes componentes básicos evoluíram de forma diferente, exibindo grande diversidade em torno das estruturas principais, de acordo com a ecologia de cada espécie.

A persistência do arco temporal varia nos indivíduos da ordem Squamata. Em alguns lagartos e serpentes, ambos os arcos estão ausentes (ROMER, 1997). Quando presentes, as aberturas temporais funcionam como sítios de inserção muscular, e juntamente com várias articulações entre as diferentes regiões do crânio, estão envolvidos na cinese craniana. A ausência de uma articulação verdadeira entre o quadrado e o crânio das serpentes, permite a rotação óssea em diferentes direções (JACOBSON, 2007). Isto explica a habilidade destes animais em acomodar e ingerir grandes presas (ROMER, 1997; JACOBSON, 2007).

Todos os répteis apresentam apenas um côndilo occipital que se articula com a primeira vértebra cervical (atlas). As divisões do esqueleto axial podem ser realizadas baseando-se na presença ou ausência de membros, e quando presentes, o tipo de membro associado (ROMER, 1997). Como nos mamíferos, a divisão do esqueleto compreende as regiões: cervical, torácica, sacral e vértebras caudais.

Nas serpentes, as costelas apresentam um formato semicircular e são ligadas a um tecido conjuntivo, que por continuidade se unem às escamas ventrais, viabilizando a forma de locomoção apresentada por estes animais (JACOBSON, 2007).

2.5 COLORAÇÕES HISTOQUÍMICAS

Os cortes histológicos se apresentam incolores após a microtomia. Assim, as colorações visam contrastar, através de reações químicas, as estruturas teciduais a serem analisadas. A ação da maioria dos corantes se baseia na interação (ligações eletrostáticas) entre os radicais ácidos ou básicos dos elementos químicos da coloração com os radicais ionizados dos tecidos (AUGHEY; FRYE, 2001c; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Os componentes teciduais que se coram com substâncias básicas são denominados basófilos, enquanto os que apresentam grande afinidade por corantes ácidos são denominados acidófilos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.5.1 Hematoxilina e eosina

A hematoxilina e eosina (HE) compreende a coloração histológica mais amplamente utilizada em laboratórios de histologia e histopatologia. Sua notoriedade ocorre devido à capacidade em apresentar, de forma clara, uma gama de diferentes estruturas teciduais (GAMBLE, 2008). A hematoxilina pode ser preparada de diversas formas e, basicamente cora os núcleos celulares em um tom de roxo escuro, com excelentes detalhes intracelulares, enquanto a eosina apresenta o citoplasma celular e as matrizes conjuntivas em vários tons de rosa, laranja e vermelho (GAMBLE, 2008).

2.5.2 Grocott metamina (hexamina) - prata

O método de Grocott (GR) é aplicado em cortes histológicos para identificação de fungos e leveduras. A coloração baseia-se na redução da prata pelos grupos aldeídos resultantes da oxidação pelo ácido crômico (BARLETT, 2008). Após a reação citoquímica, os fungos são marcados com a cor negra (BARLETT, 2008). Consiste no método de eleição para detecção destes microrganismos mesmo em tecidos onde seu número se apresenta diminuto (BARLETT, 2008).

2.5.3 Warthin Starry

O método de Warthin Starry (WS) consiste em uma coloração histológica baseada em nitrato de prata, utilizada principalmente para detecção de bactérias espiroquetas (BARLETT, 2008). É comumente aplicada para identificação de microrganismos como: *Helicobacter pylori*, *Lawsonia intracelullaris*, *Leptospira* sp. e microsporídia (BARLETT, 2008). Após reação citoquímica os microrganismos se coram em marrom ou preto, sobre um fundo dourado (BARLETT, 2008).

2.5.4 Von Kossa

O método de coloração por prata, desenvolvido por Von Kossa em 1901, é utilizado em compostos minerais (fosfato de cálcio) das matrizes ósseas, e consiste em uma coloração negativa para osteóides, com a matriz mineralizada enegrecida pela deposição da prata (CALLIS, 2008). O princípio da coloração é uma reação de precipitação, em que os íons de prata reagem com o fosfato (CALLIS, 2008). A degradação fotoquímica do fosfato de prata em prata ocorre na presença de luz artificial, em tempo médio de 60 minutos (CALLIS, 2008).

2.6 MICROTOMOGRAFIA

A microtomografia computadorizada é uma técnica de imagem não destrutiva que pode quantificar estruturas internas de um objeto. Trata-se de uma forma “miniaturizada” da tomografia computadorizada utilizada na área médica, que, conjuntamente com os avanços dos programas de gerenciamento de imagens, permite seu uso nas diversas áreas do estudo morfológico (POLAK, 2012).

A microtomografia computadorizada de raios-X é um sistema com forma de aquisição *Cone-Beam*, composto por um feixe de microfoco de raios-X refrigerado e câmara *charged couple device* (CCD) acoplada. O sistema permite regulagem de potência e amperagem, assim como variações de rotação da amostra (RUBINO, 2012).

A partir de centenas de projeções das imagens obtidas, o computador sintetiza seções virtuais bidimensionais com resolução na ordem de micrômetros (RUBINO, 2012). Os equipamentos de captura e reconstrução de imagens permitem a obtenção de múltiplas projeções do objeto e posterior reconstrução tridimensional, com a possibilidade de visualizar e navegar no interior das imagens reconstruídas (RUBINO, 2012).

Figura 3 – *B. jararaca*. Corte histológico de coração (HE)

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 4 – *B. jararaca*. Corte histológico de coluna vertebral (sentido longitudinal) (HE)

Legenda: Musculatura periaxial (MP), corpo vertebral (CV), medula óssea (MO) e medula espinhal (ME).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 5 – *B. jararaca*. Corte histológico da glândula de veneno (HE)

Nota: veneno (V) armazenado nos ácinos glandulares dilatados.

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 6 – *B. jararaca*. Corte histológico de estômago (HE)

Foto: (GOGONE, I. C. V. P., 2014).

Figura 7 – *B. jararaca*. Corte histológico de intestino delgado (HE)

Foto: (GOGONE, I. C. V. P., 2014).

Figura 8 – *B. jararaca*. Corte histológico de fígado (HE)

Nota: esteatose hepática fisiológica em neonatos, fase de absorção e metabolização do vitelo.

Foto: (GOGONE, I. C. V. P., 2014).

Figura 9 – *B. jararaca*. Corte histológico de baço e pâncreas (HE)

Nota: baço (B) adjacente ao pâncreas (P), formando o espleno-pâncreas.

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 10 – *B. jararaca*. Corte histológico de pulmão (HE)

Foto: (GOGONE, I. C. V. P., 2014).

Figura 11 – *B. jararaca*. Corte histológico de rim (HE)

Nota: glomérulo renal (seta).

Foto: (GOGONE, I. C. V. P., 2014).

Figura 12 – *B. jararaca*. Corte histológico de medula espinhal (sentido transversal) (HE)

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 13 - *C. durissus*. Corte histológico de olho (HE)

Legenda: Lente (L), córnea (C), espectáculo (E) e escama periocular (EP).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

3 OBJETIVOS

Bothrops jararaca

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar morfologicamente as alterações macroscópicas e microscópicas observadas em filhotes de *B. jararaca* e *C. durissus* mantidas junto ao Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan e acometidas por malformações congênitas, correlacionando as alterações histopatológicas com as malformações externas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever macroscopicamente as alterações observadas, por meio de técnicas fotográficas, radiográficas, microtomográficas e necroscópicas;
- Investigar, por meio de técnicas histoquímicas rotineiras e especiais, as alterações microscópicas relacionadas direta e indiretamente com as alterações congênitas;
- Caracterizar morfometricamente as alterações observadas, através de programas informatizados de captura e análise de imagens;
- Documentar fotograficamente tanto as alterações macroscópicas quanto as microscópicas, com vistas à elaboração de acervo das principais malformações congênitas acometendo estas duas espécies de serpentes neotropicais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Crotalus durissus

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LICENÇAS

Todos os procedimentos descritos nesta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (2691/2012) e pela licença SISBIO número 34863-1.

4.2 ANIMAIS

No período entre 2007 e 2013, 7111 serpentes recém-capturadas das espécies *B. jararaca* (2287 fêmeas e 1231 machos) e *C. durissus* (1653 fêmeas e 1940 machos), entregues ao Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, foram medidas, pesadas e sexadas. Após biometria e exame físico geral, os animais foram imersos em solução de triclorfon (Neguvon[®], Bayer, Belford Roxo, Brasil) a 0,2% e receberam duas doses de ivermectina (Ivomec[®], Merial Brasil, Paulínia, Brasil) (0,2 mg/kg), em intervalo de 15 dias, como profilaxia antiparasitária padronizada pelo Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan.

Fêmeas adultas foram submetidas a exames ultrassonográficos para avaliação do *status* reprodutivo. Após diagnóstico de prenhez, as fêmeas grávidas foram selecionadas e mantidas em salas climatizadas com temperatura em torno de 25° a 27°C e umidade relativa de aproximadamente 70%, individualizadas em caixas plásticas (60x40x15), com substrato constituído de papelão corrugado e bebedouro com água *ad libitum*. A alimentação era composta por camundongos (*Mus musculus*) e ratos (*Rattus norverdicus*), de acordo com o tamanho da serpente, oferecida mensalmente.

Após nascimento ou aborto das ninhadas, os recém-nascidos foram submetidos a exames biométricos e inspecionadas quanto à presença ou não de malformações congênitas. Após análise, as serpentes teratogênicas nascidas vivas foram submetidas à eutanásia pelo método de saturação em câmara de CO₂. Os animais acometidos por malformações estão descritos no item 5, sendo que estes dados foram parcialmente publicados por Sant'Anna et al. (2013).

Indivíduos saudáveis (três machos e três fêmeas de cada espécie), com idades aproximadas às dos animais malformados, foram submetidos à eutanásia, constituindo o grupo controle.

4.3. CLASSIFICAÇÃO, DOCUMENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MACROSCÓPICA DAS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS

4.3.1 Classificação das malformações

As anomalias observadas foram classificadas de acordo com Frye (1991c); Rothschild et al. (2012), e originalmente publicadas em Sant'Anna et al. (2013).

Malformações de coluna incluíram: cifose, lordose e escoliose. Malformações oculares incluíram: anoftalmia, microftalmia e buftalmia. Malformações das escamas incluíram: fusão das escamas ventrais e heterotopia de escamas. Malformações de cabeça incluíram: bicefalia, braquignatia, hidrocefalia, micrognatia e queilosquise (fissura labiopalatal). Malformações do corpo incluíram: esquistossomia, cauda enrodilhada, cauda incompleta e nanismo.

4.3.2 Documentação fotográfica

Após eutanásia ou morte natural, as serpente recém-nascidas e portadoras de teratogênias foram submetidas a sessões fotográficas no Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM), Departamento de Patologia (VPT), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), com auxílio de câmara fotográfica Nikon, modelo D7000, equipada com lente AF-S VR Micro-NIKKOR 105mm f/2.8G IF-ED, para documentação macroscópica das malformações.

4.3.3 Exames radiográficos e análise biométrica das malformações

Para os animais que apresentaram anomalias envolvendo matrizes ósseas (crânio e/ou coluna), foram realizados exames para caracterização radiográfica destas lesões. Radiografias digitais nas posições laterolateral e ventrodorsal foram obtidas *post-mortem*, por meio de equipamento radiológico Tecno Designer, de 500mA, com mesa radiológica portando grade antidifusora, acoplados ao sistema de radiografia computadorizada FujiFilm modelo FCR CÁPSULA, e cassetes com placa de fósforo como detector de raios-X nos tamanhos 18x24cm ou 30x24cm. As radiografias foram analisadas em monitor com três megapixels, de 50cm, LCD (liquid crystal display). Estes exames foram executados no Serviço de Diagnóstico por Imagem, do Departamento de Cirurgia da FMVZ-USP, sob a supervisão e auxílio das professoras doutoras Ana Carolina Brandão de Campos Fonseca Pinto e Carla Aparecida Batista Lorigados, com o apoio técnico da Médica Veterinária Silvana Maria Unruh. Os resultados radiográficos foram originalmente publicados de forma parcial por Sant'Anna et al., 2013.

A análise biométrica das malformações ósseas foi realizada com base nas imagens radiográficas e mensurada com auxílio de *software* para análise de imagens Image J[®]. Assim, foram medidas as posições das malformações em relação ao comprimento total do indivíduo (distância entre narina e cloaca), expressas na forma de porcentagem, e o ângulo interno de desvio de cada lesão, expresso em graus (Figura 14).

Com base nos dados morfométricos foi realizado teste de correlação entre localização e o grau de desvio das lesões. As análises foram efetuadas considerando o comprimento total e seus segmentos: terço inicial (lesões localizadas entre 0 e 33%), médio (lesões localizadas entre 34 e 66%) e final (lesões localizadas entre 67 e 100%).

Lesões pós-cloacais não foram consideradas durante realização dos testes de correlação.

Figura 14 – *C. durissus*. Imagem radiográfica com destaque para os desvios angulares da coluna, ilustrando o método de análise morfométrica – São Paulo – 2014

Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

4.3.4 Exames microtomográficos

Os crânios e colunas vertebrais de 12 serpentes foram submetidas à varredura no microtomógrafo Skyscan modelo 1176 - alta resolução *in vivo*, no Departamento de Genética e Biologia Evolutiva do Instituto de Biociências (IB), da USP, como forma de auxílio na caracterização das lesões ósseas apresentadas. Como grupo controle, dois animais aparentemente saudáveis, sendo um de cada espécie, também foram analisados, constituindo padrões anatômicos de normalidade para as alterações ósseas identificadas.

Para realização dos exames, os cadáveres selecionados foram envolvidos em parafilme a fim de se evitar o ressecamento dos espécimes durante o procedimento, e posteriormente presos ao suporte de amostra do microtomógrafo de forma centralizada ao tubo de raios-x, minimizando a ocorrência de artefatos nas imagens (Figura 15).

A varredura ocorreu na resolução de 17,42 μ m (2000x1336 pixels), com filtro de alumínio de 0,2mm, voltagem de 33 kV e corrente de 470 μ A, com rotação em 360°.

Para reconstrução das imagens de projeção microtomográfica foi utilizado *software* NRecon[®] versão 1.6.6.0. Para reconstrução tridimensional dos crânios e colunas, foi utilizado *software* CTvox[®], versão 2.2, da Skyscan.

A aquisição e reconstrução 3D das imagens microtomográficas foram realizadas sob a supervisão e auxílio da doutora Simone Ferreira, técnica do Departamento de Genética e

Biologia Evolutiva do IB – USP. As análises microtomográficas foram realizadas com auxílio e supervisão das professoras doutoras Ana Carolina Brandão de Campos Fonseca Pinto e Carla Aparecida Batista Lorigados, do Serviço de Diagnóstico por Imagem, Departamento de Cirurgia da FMVZ-USP.

Figura 15 – Exame micrtotomográfico em *B. jararaca* – São Paulo – 2014

Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014)

4.3.5 Exame necroscópico

As necropsias foram realizadas no Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan e no LAPCOM/VPT-FMVZ-USP, conforme técnica padrão de exame macroscópico estabelecido para ofídios (MATUSHIMA, 2007). Parte dos exames necroscópicos foi realizada pelo biólogo Sávio Stefanini Sant’Anna, com dados originalmente publicados em Sant’Anna et al. (2013). Os fragmentos de todos os órgãos colhidos para exame histopatológico, no decorrer da necropsia, foram fixados em solução de formol a 10%.

4.4 CARACTERIZAÇÃO MICROSCÓPICA DAS MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS

4.4.1 Processamento histológico e análise histopatológica

As amostras teciduais fixadas em solução de formol a 10% foram processadas no Laboratório de Histologia do VPT/FMVZ-USP, segundo a técnica rotineira de inclusão em parafina, e posteriormente seccionadas em cortes de aproximadamente 5µm de espessura mediante micrótomo de rotação. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina para posterior montagem em resina sintética diluída em tolueno (PermountTM).

Para os fragmentos teciduais que continham matrizes ósseas foi estabelecido protocolo de descalcificação em solução de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) a 7% (CARVALHO et al., 2008), em pH 8, por tempo médio de 14 dias.

Técnicas histoquímicas especiais foram realizadas quando julgado necessário, incluindo Von Kossa, essencialmente para avaliação das matrizes ósseas envolvidas em malformações de coluna; método de Grocott e Warthin Starry para identificação ou exclusão de infecções em nefrites intersticiais.

O exame histopatológico dos tecidos foi realizado em microscopia de luz, com aumentos de 40, 100, 200, 400 e 1000x.

Fragmentos teciduais em estado de autólise não foram considerados para as análises estatísticas.

Como controle foram confeccionadas 50 lâminas histológicas provenientes de 12 serpentes de mesma faixa etária e aparentemente saudáveis, compreendendo três machos e três fêmeas de cada espécie.

4.4.2 Documentação fotográfica

A documentação fotográfica das lesões histopatológicas foi realizada com auxílio de câmara fotográfica modelo Go-5 Datasheet-QImaging[®], acoplada a microscópio ótico Olympus[®] BX50. As imagens foram capturadas com auxílio do programa Image-Pro 3DS[®] e analisadas por meio de *software* para análise de imagens Image J[®].

4.4.3 Mensuração da densidade mineral óssea em tecidos teratogênicos

A mensuração da densidade mineral de matrizes ósseas de animais com malformações e nos animais controle foi realizada com auxílio de *software* para análise de imagens Image J®, sobre fotografias de seções histológicas coradas pelo método de Von Kossa.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para realização dos testes estatísticos e para confecção das figuras, foi utilizado o programa de análises estatísticas Graphpad Prism 5.0. Apenas para as análises categóricas foi utilizado o *software* Sigma.Plot, versão 12.0 para Windows.

Os dados contínuos foram inicialmente comparados com a Curva Normal pelo teste de D'Agostino-Pearson e classificados quanto à normalidade pela aderência à Curva de Gauss.

Os dados foram representados por média e erro padrão da amostra. Quando comparadas duas amostras com distribuição não paramétrica, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Dados contínuos foram analisados pela correlação de Pearson quando paramétricos e pela correlação de Spearman quando não paramétricos.

Os dados categóricos foram representados por frequência relativa (%) e comparados com teste exato de Fisher ($n < 20$) ou Qui-quadrado ($n > 20$). O teste Exato de Fisher foi aplicado na análise das tabelas de contingência confeccionadas a partir da classificação das malformações e das alterações hitopatológicas para verificar o grau de correlação entre as mesmas.

Para todo o estudo foi considerado o risco alfa menor ou igual a 5% ($p < 0,05$) de cometer erro tipo I ou de 1ª espécie, e risco Beta menor ou igual a 20% de cometer erro tipo II ou de 2ª espécie.

Os testes estatísticos foram realizados com a supervisão dos Doutores Ralph Vanstreels e Nicolle G. T. Queiroz-Hazarbassanov.

5 RESULTADOS

Bothrops jararaca

5 RESULTADOS

Durante o período de estudo foram selecionadas 102 serpentes portadoras de teratogênias, sendo 75 pertencentes à espécie *B. jararaca*, 40 (53,3%) machos e 35 (46,7%) fêmeas; e 27 à espécie *C. durissus*, sendo 11 (40,7%) machos e 16 (59,3%) fêmeas (dados parcialmente publicados por SANT'ANNA et al., 2013).

5.1 CLASSIFICAÇÃO E DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA DAS MALFORMAÇÕES EXTERNAS

Nos indivíduos da espécie *B. jararaca*, as malformações externas incluíram: anoftalmia (1/75; 1,3%), anomalias de pigmentação (2/75; 2,7%), bicefalia (2/75; 2,7%), braquignatia (3/75; 4%), buftalmia (5/75; 6,7%), cauda enrodilhada (14/75; 18,7%), cauda incompleta (4/75; 5,3%), ciclopia (1/75; 1,3%), cifoescoliose (10/75; 13,3%), cifose (16/75; 21,3%), escoliose (11/75; 14,7%), esquistossomia (13/75; 17,3%), fusão das escamas ventrais (10/75; 13,3%), hidrocefalia (7/75; 9,3%), fenda labial (2/75; 2,7%), lordose (6/75; 8%), malformação cefálica (4/75; 5,3%), nanismo (1/75; 1,3%) e prognatismo (3/75; 4%) (Apêndice A) (dados parcialmente publicados por Sant'Anna et al., 2013).

Na espécie *C. durissus* foram identificadas: anomalias de pigmentação (2/27; 7,4%), buftalmia (2/27; 7,4%), cauda enrodilhada (2/27; 7,4%), cifoescoliose (6/27; 22,2%), cifose (9/27; 33,3%), escoliose (9/27; 33,3%), esquistossomia (2/27; 7,4%), fusão de escamas ventrais (3/27; 11,1%), hidrocefalia (2/27; 7,4%), lordose (3/27; 11,1%), malformação cefálica (3/27; 11,1%) e nanismo (1/27; 3,7%) (Apêndice A). Estes dados foram publicados de forma parcial por Sant'Anna et al. (2013).

A representação macroscópica destas malformações encontra-se ilustrada nas figuras 16-39.

Figura 16 – *B. jararaca*. Alteração do padrão de coloração da pele – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 17 – *B. jararaca*. Buftalmia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 18 – *B. jararaca*. Anoftalmia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 19 – *B. jararaca*. Anoftalmia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 20 – *B. jararaca*. Ciclopia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 21 – *B. jararaca*. Ciclopia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014)

Figura 22 – *B. jararaca*. Bicefalia – São Paulo – 2014

Nota: Caso de malformação originalmente fotodocumentado em Sant'Anna et al. (2013).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 23 – *B. jararaca*. Bicefalia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 24 – *B. jararaca*. Bicefalia, fusão de escamas ventrais e cifose acentuada – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 25 – *B. jararaca*. Fusão de escamas ventrais – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 26 – *B. jararaca*. Cauda incompleta – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 27 – *B. jararaca*. Cauda enrodilhada – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 28 – *B. jararaca*. Hidrocefalia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 29 – *B. jararaca*. Prognatismo – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 30 – *B. jararaca*. Braquignatia – São Paulo – 2014

Nota: Caso de malformação originalmente fotodocumentado em Sant'Anna et al. (2013).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 31 – *B. jararaca*. Lordose – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 32 – *C. durissus*. Cifose – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 33 – *C. durissus*. Escoliose – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 34 – *B. jararaca*. Esquistossomia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 35 – *B. jararaca*. Esquistossomia – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 36 – *B. jararaca*. Malformação cefálica seguida de cifoesciose – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 37 – *B. jararaca*. Malformação cefálica com bifurcação axial – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 38 – *B. jararaca*. Nanismo – São Paulo – 2014

Nota: Caso de malformação originalmente fotodocumentado em Sant'Anna et al. (2013)
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 39 – *B. jararaca*. Feto. Cifoesciose – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.2 CARACTERIZAÇÃO RADIOGRÁFICA E ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Foram analisadas 113 projeções radiográficas, contemplando 76 animais, 26 cascavéis e 50 jararacas, conforme procedimentos descritos no item 4.2.3 da seção Material e Métodos. Os dados morfométricos obtidos estão expostos no apêndice B.

5.2.1 Análise do número de lesões por segmento do corpo

Após obtenção dos dados morfométricos foi realizada análise do número de lesões apresentadas em cada segmento do corpo (inicial, médio e final). Para as serpentes da espécie *B. jararaca* não foi verificada diferença estatística significativa (Qui-quadrado, $p=0,6171$). Entretanto, os indivíduos da espécie *C. durissus* apresentaram significativamente maior número de lesões no segmento corpóreo final (Qui-quadrado, $p=0,0007$). Os dados estão ilustrados na figura 40 A e B, para *B. jararaca* e *C. durissus*, respectivamente.

Figura 40 – Número total de lesões por segmento corpóreo – São Paulo – 2014

Legenda: A) *B. jararaca* e B) *C. durissus*.

Nota: * $p=0,0007$. Estatisticamente maior número de lesões (teste Qui-quadrado) em terço final de *C. durissus*.

Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.2.2 Correlação entre angulação e localização das malformações de coluna, distribuídos pelo comprimento corpóreo total

Nesta avaliação não foram notadas diferenças estatisticamente significativas para nenhuma das duas espécies analisadas (*B. jararaca*: Spearman $r = 0,08290$, $p = 0,2713$; *C. durissus*: Spearman $r = 0,1379$; $p = 0,1802$). Os dados estão ilustrados na figura 41 A e B, para *B. jararaca* e *C. durissus*, respectivamente.

Figura 41 – Correlação entre localização e angulação das malformações de coluna – São Paulo – 2014

Legenda: A) *B. jararaca* e B) *C. durissus*.

Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.2.3 Correlação entre angulação e localização das malformações de coluna, distribuídas por segmento do corpo

Testes de correlação foram realizados entre a angulação e a localização das malformações de coluna, para cada segmento do corpo (inicial, médio e final), em jararacas e cascavéis. As correlações não foram estatisticamente significativas para nenhum dos segmentos analisados, nas duas espécies estudadas. Os valores de r e p estão expostos no quadro 1. Os dados da correlação estão ilustrados nas figuras 42 e 43, para *B. jararaca* e *C. durissus*, respectivamente.

Quadro 1 – Valores de r e p para as correlações entre o grau e localização das malformações de coluna em *B. jararaca* e *C. durissus*

Segmento	<i>B. jararaca</i>	<i>C. durissus</i>
Inicial	Spearman $r = 0,044$; $p = 0,7507$	Pearson $r = -0,022$; $p = 0,9165$
Médio	Spearman $r = -0,110$; $p = 0,4193$	Pearson $r = -0,210$; $p = 0,3605$
Final	Spearman $r = 0,055$; $p = 0,6633$	Spearman $r = 0,106$; $p = 0,4689$

Figura 42 – *B. jararaca*. Correlação entre localização e angulação das lesões de coluna, distribuídas por segmento do corpo – São Paulo – 2014

Legenda: A) segmento inicial B) segmento médio e C) segmento final.
Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 43 – *C. durissus*. Correlação entre localização e angulação das lesões de coluna, distribuídas pelos segmentos do corpo – São Paulo – 2014

Legenda: A) segmento inicial, B) segmento médio e C) segmento final
Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.2.4 Análise comparativa interespecífica das angulações das malformações de coluna

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre *B. jararaca* e *C. durissus*, em relação à angulação das malformações de coluna (Mann-Whitney, $p=0,0187$), sendo que as serpentes da espécie *B. jararaca* apresentaram desvios mais severos. Os dados estão ilustrados na figura 44.

Figura 44 – Angulação das malformações em coluna, presentes em *B. jararaca* e *C. durissus* – São Paulo – 2014

Nota: * $p=0,0187$. Significativamente menor em *B. jararaca* (teste Mann-Whitney)
 Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.2.5 Análise comparativa intraespecífica do número de lesões entre machos e fêmeas

Nesta análise não houve diferença estatística significativa entre machos e fêmeas da espécie *B. jararaca* (Qui-quadrado, $p=0,0573$). Entretanto, as fêmeas de cascavel apresentaram número significativamente maior de lesões do que os machos (Qui-quadrado, $p=0,0001$). Os dados estão ilustrados na figura 45.

Figura 45 – Número de lesões de coluna, comparado entre machos e fêmeas – São Paulo – 2014

Legenda: A) *B. jararaca* e B) *C. durissus*.

Nota: * $p=0,0001$. Número de lesões significativamente maior em fêmeas de *C. durissus* (teste Qui-quadrado).

Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.2.6 Análise comparativa intraespecífica das angulações das malformações de coluna entre machos e fêmeas

Nesta análise não houve diferença estatística significativa entre machos e fêmeas da espécie *B. jararaca* (Mann-Whitney, $p=0,7471$). Entretanto, fêmeas de *C. durissus* apresentaram significativamente menores angulações (lesões mais severas) do que machos (Mann-Whitney, $p=0,0028$). Os dados estão ilustrados na figura 46.

Figura 46 – Angulações das malformações de coluna, comparado entre machos e fêmeas – São Paulo – 2014

Legenda: A) *B. jararaca* e B) *C. durissus*.

Nota: * $p=0,0028$. Significativamente menor em fêmeas de *C. durissus* (teste Mann-Whitney).

Fonte: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.3 CARACTERIZAÇÃO MICROTOMOGRÁFICA

Os indivíduos selecionados para realização dos exames microtomográficos apresentaram externamente: anoftalmia, bicefalia, buftalmia, cauda enrodilhada, ciclopia, cifoesciose, hidrocefalia, lordose, malformação cefálica e prognatismo. A figura 47 apresenta o padrão anatômico normal do crânio em uma serpente da espécie *C. durissus*. Os ossos foram nomeados de acordo com Romer (1997).

Figura 47 – Anatomia microtomográfica normal do crânio de *C. durissus* – São Paulo – 2014

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Os resultados das análises microtomográficas dos indivíduos teratogênicos selecionados estão distribuídas de acordo com a identificação, espécie e malformação externa, no quadro 2 abaixo:

Quadro 2 – Análises microtomográficas distribuídas de acordo com a identificação, espécie e malformação externa

Identificação	Espécie	Malformação (ões) externa (s)	Análise microtomográfica
BjMct 01	<i>B. jararaca</i>	buftalmia	Cavidade orbital rasa, suturas fronto-parietais alargadas. Ossos pré-frontal, frontal e pós-frontal com dimensões reduzidas, bilateralmente. Figura 48.
BjMct 02	<i>B. jararaca</i>	anoftalmia	Osso ectopterigoide apresenta curvatura anormal em direção à órbita. Ossos nasais, frontal, cavidade orbitária e pré-maxilar apresentam alterações morfológicas. Figura 49.
BjMct 03	<i>B. jararaca</i>	ciclopia	Prognatismo; ausência dos ossos pré-maxilar e pré-frontal. Osso nasal com alterações morfológicas. Ectopterigóide apresenta curvatura anormal em direção à órbita. Osso frontal com dimensões reduzidas. Alterações morfológicas em cavidades orbitárias, mais evidentes no lado esquerdo. Adelgaçamento bilateral do osso parietal. Assimetria entre mandíbulas. Figuras 50.
BjMct 04	<i>B. jararaca</i>	hidrocefalia	Calota craniana abobadada. Ossos parietal, temporal e occipital apresentam maior adelgaçamento, com suturas largas, especialmente nos parietais. Osso occipital apresenta-se mais abaulado. Cavidades orbitárias maiores. Assimetria mandibular. Figura 51.
BjMct 05	<i>B. jararaca</i>	cauda enrodilhada	Cifose em espiral e escoliose. Figura 52.
BjMct 06	<i>B. jararaca</i>	bicefalia	Cabeças fusionadas pelos ossos surangulares, occipital, supra-occipital, basiesfenóide e basioccipital. Entre os ossos suprangular e dental ocorre angulação mais pronunciada nas duas cabeças. Lordose acentuada em região cervical, seguido de escoliose. Figura 53.
BjMct 07	<i>B. jararaca</i>	bicefalia	Duplicação da coluna em região proximal, escoliose seguida de cifose. Figura 54.
BjMct 08	<i>B. jararaca</i>	cifo escoliose e lordose	Escoliose, cifo escoliose e lordose. Figura 55.
BjMct09	<i>B. jararaca</i>	bicefalia	Duplicação dos ossos nasal, pré-maxilar e mandibular. Além de duplicada, a mandíbula secundária apresenta-se de forma transversal ao eixo da mandíbula principal. Presença de alterações morfológicas nos ossos pré-frontal e frontal. Figuras 56.
CdMct 10	<i>C. durissus</i>	cifo escoliose	Espinha bífida, fusão de corpos vertebrais, fusão de algumas cabeças de costelas; cifo escoliose com alterações em corpos vertebrais, classificadas como hemivértebras. Figura 57.
BjMct 11	<i>B. jararaca</i>	escoliose, malformação cefálica	Prognatismo, assimetria mandibular (esquerda mais rostral), alteração morfológica em calota craniana. Coluna em espiral. Agenesia de ossos frontal, parietal e occipital. Figura 58.

Figura 48 –Reconstrução microtomográfica do crânio de *B. jararaca*. BjMct 01 – São Paulo – 2014

Nota: Vista lateral esquerda. Destaque para cavidade orbitária mais rasa; suturas fronto-parietais alargadas (seta).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 49 – Reconstrução microtomográfica do crânio de *B. jararaca*. BjMct 02 – São Paulo – 2014

Nota: Vista lateral esquerda. Destaque para malformação do osso ectopterigoide com curvatura anormal direcionada para cavidade orbitária (seta amarela). Cavidade orbital (seta vermelha), ossos nasais (seta azul), frontal (seta branca) e pré-maxilar (asterisco vermelho) apresentam alterações morfológicas.

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 50 – Reconstrução microtomográfica do crânio de *B. jararaca*.
BjMct 03 – São Paulo – 2014

Nota: A) Vista lateral esquerda. Destaque para a ausência dos ossos nasal e pré-maxilar; osso pré-frontal e frontal apresentam dimensões reduzidas (setas vermelhas); curvatura anormal do osso ectopterigoide deslocada em direção à órbita (seta amarela) e prognatismo (seta azul). B) Vista dorsal. Destaque para prognatismo e assimetria de corpos mandibulares (seta vermelha). Adelgaçamento bilateral do osso parietal (setas amarelas). C) Vista frontal. Destaque para alterações morfológicas em cavidades orbitárias, voltadas rostralmente (setas).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 51 – Reconstrução microtomográfica do crânio de *B. jararaca*. BjMct 04 – São Paulo – 2014

Nota: Vista lateral esquerda. Presença de calota craniana em forma de abóboda e adelgaçamento do osso parietal (seta amarela).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 52 – Reconstrução microtomográfica de cauda enrodilhada em *B. jararaca*. BjMct 05 – São Paulo – 2014

Nota: Cifose em espiral e escoliose em cauda.

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 53 – Reconstrução microtomográfica do crânio e porção mais cranial da coluna vertebral em *B. jararaca*. BjMct 06 – São Paulo – 2014

Nota: A) Vista frontal. Destaque para a fusão dos ossos surangulares (seta branca) e supraoccipital (seta amarela). B) destaque para fusão dos ossos basiesfenoide (seta amarela) e basioccipital (seta branca); lordose acentuada (seta vermelha), seguida de escoliose (seta azul).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 54 – Reconstrução microtomográfica de bifurcação axial em *B. jararaca*. BjMct 07– São Paulo – 2014

Nota: A) Vista lateral. Destaque para duplicação axial em região proximal da coluna (seta amarela); B) Vista ventral. Destaque para escoliose (seta amarela), seguida de cifose (seta branca) e duplicação da coluna em região proximal (seta vermelha).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 55 – Reconstrução microtomográfica de coluna em *B. jararaca*. BjMct 08 – São Paulo – 2014

Nota: lordose e escoliose (seta amarela), seguida de cifo escoliose (seta branca).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 56 – Reconstrução microtomográfica de bifurcação rostral em *B. jararaca*. BjMct 09 – São Paulo – 2014

Nota: A) Vista dorsal. Destaque para a duplicação dos ossos nasais (N) e pré-maxilares (PM); B) Vista ventral. Destaque para eixo mandibular secundário (MS) posicionado em sentido transversal aos ramos mandibulares principais (MP).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 57 –Reconstrução microtomográfica do esqueleto de *C. durissus*. CdtMct 10 – São Paulo – 2014

Nota: A) Vista dorsal. Imagem microtomográfica de cifoesciose. Destaque para não fusão do arco dorsal de vários corpos vertebrais (espinha bífida) (setas amarelas). B) Destaque para fusão de vértebras associada à espinha bífida (seta vermelha), hemivértebras (seta verde), fusão de algumas cabeças de costelas (seta amarela) e costelas duplicadas (seta branca).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 58 – Reconstrução microtomográfica de malformação cefálica, cifoescoliose e lordose em *B. jararaca*. BjMct 11– São Paulo – 2014

Nota: A) Destaque para prognatismo (seta branca), malformação em calota craniana (seta vermelha), com cifose, lordose e escoliose, consecutivas (setas amarelas). B) Destaque para a assimetria de ramos mandibulares (seta) e fenda em calota craniana (elipse pontilhada), com agenesia dos ossos frontal, parietal e supraoccipital.

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

5.4 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS

A partir dos 102 animais teratogênicos amostrados foram confeccionadas 173 lâminas para análise histopatológica. As alterações histopatológicas identificadas foram analisadas, classificadas e distribuídas de acordo com a malformação congênita e espécie de serpente.

Animais portadores de anoftalmia, anomalias de pigmentação, hidrocefalia e malformação cefálica (estas últimas apenas em *C. durissus*) não foram avaliados microscopicamente devido ao estado de autólise apresentado pelos tecidos.

Dentre os animais avaliados, 98,3% das jararacas e 100% das cascavéis teratogênicas apresentaram algum tipo de alteração histopatológica. As alterações identificadas foram classificadas e distribuídas de acordo com a espécie de serpente.

5.4.1 Análises descritiva e estatística das alterações histopatológicas observadas nas serpentes teratogênicas, distribuídas de acordo com a malformação

As tabelas 1 a 15 apresentam as alterações histopatológicas observadas em função da categoria de malformação e distribuídas de acordo com a espécie de serpente. Os resultados microscópicos estão expressos em número de animais positivos/número de animais analisados (n), porcentagem (%) e significância estatística (p).

5.4.1.1 Bicefalia

Foram analisadas duas *B. jararaca* acometidas por bicefalia (Tabela 1).

Tabela 1 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de bicefalia

(Continua)

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Congestão hepática	1/2 (50,0)	0,282
Esteatose hepática	2/2 (100,0)	1,000

(Conclusão)

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Esteatose renal	2/2 (100,0)	1,000
Leucocitose heterofílica (coração)	1/2 (50,0)	0,282

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

5.4.1.2 Braquignatia

Foram analisadas três *B. jararaca* acometidas por braquignatia (Tabela 2).

Tabela 2 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de braquignatia

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Celomite	1/3 (33,3)	0,134
Congestão pulmonar	1/2 (50,0)	0,521
Dilatação tubular renal	2/3 (66,6)	0,436
Doença renal cística tubular	2/3 (66,6)	0,003*
Doença renal glomerulocística	2/3 (66,6)	0,027*
Edema renal intersticial	1,3 (33,3)	0,191
Esteatose hepática	3/3 (100,0)	1,000
Esteatose renal	3/3 (100,0)	1,000
Hepatite	1/3 (33,3)	0,226
Leucocitose (fígado)	1/3 (33,3)	-
Nefrite intersticial	1/3 (33,3)	0,230

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

*estatisticamente significativo (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$)

- para dado não disponível

5.4.1.3 Buftalmia

Foram analisadas cinco *B. jararaca* e duas *C. durissus* acometidas por buftalmia (Tabela 3).

Tabela 3 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de buftalmia

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	1/2 (50,0)	1,000	-	-
Ceratoconjuntivite	2/2 (100,0)	0,018*	-	-
Dermatite	1/2 (50,0)	0,513	1/2 (50,0)	-
Dermatite intraespectacular	2/2 (100,0)	0,013*	2/2 (100,0)	-
Dilatação tubular renal	-	-	1/1 (100,0)	0,375
Enterite	1/4 (25,0)	0,265	-	-
Esteatose hepática	4/4 (100,0)	1,000	1/1 (100,0)	1,000
Esteatose renal	4/5 (80,0)	1,000	1/1 (100,0)	1,000
Hepatite	2/4 (50,0)	0,014*	-	-
Leucocitose (coração)	-	-	1/1 (100,0)	-
Leucocitose (pâncreas)	1/4 (25,0)	-	-	-
Leucocitose (pulmão)	1/5 (20,0)	-	-	-
Pneumonia intersticial	1/5 (20,0)	0,239	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

*estatisticamente significativo (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$)

- para dado não disponível

5.4.1.4 Cauda enrodilhada

Foram analisadas 14 *B. jararaca* e duas *C. durissus* acometidas por cauda enrodilhada (Tabela 4).

Tabela 4 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de cauda enrodilhada

(Continua)

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	3/14 (21,4)	0,265	-	-
Congestão hepática	2/13 (15,4)	0,673	-	-
Congestão pulmonar	1/12 (8,3)	0,244	-	-
Congestão renal	3/12 (25,0)	0,679	-	-
Degeneração fibrinóide (fibras musculares)	1/4 (25,0)	-	-	-
Enterite	1/14 (7,1)	1,000	-	-
Esteatose hepática	10/13 (76,9)	0,614	2/2 (100,0)	1,000
Esteatose renal	12/12 (100,0)	1,000	2/2 (100,0)	1,000

Alterações histopatológicas	(Conclusão)			
	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Fusão de corpos vertebrais	1/4 (25,0)	1,000	-	-
Leucocitose (coração)	1/14 (7,1)	-	-	-
Leucocitose (fígado)	1/13 (7,7)	-	-	-
Leucocitose (intestino)	1/14 (7,1)	-	-	-
Leucocitose (pulmão)	1/12 (8,3)	-	-	-
Miocardite	1/14 (7,1)	0,269	-	-
Miosite	1/4 (25,0)	0,115	-	-
Necrose de coagulação (fibras musculares)	2/4 (50,0)	0,222	-	-
Pneumonia intersticial	1/12 (8,3)	1,000	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.5 Cauda incompleta

Foram analisadas quatro *B. jararaca* acometidas por cauda incompleta (Tabela 5).

Tabela 5 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de cauda incompleta

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Congestão hepática	1/3 (33,3)	0,394
Congestão renal	1/2 (50,0)	0,315
Enterite	1/2 (50,0)	0,139
Esteatose hepática	3/3 (100,0)	1,000
Esteatose renal	2/2 (100,0)	1,000
Leucocitose (fígado)	1/3 (33,3)	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.6 Cifoescoliose

Foram analisadas dez *B. jararaca* e seis *C. durissus* acometidas por cifoescoliose (Tabela 6).

Tabela 6 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de cifoescoliose

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	1/10 (10,0)	1,000	-	-
Congestão pulmonar	2/7 (28,6)	1,000	1/5 (20,0)	0,234
Congestão encefálica	1/2 (50,0)	0,308	-	-
Dermatite	2/10 (20,0)	1,000	-	-
Dilatação tubular renal	1/9 (11,1)	1,000	1/5 (20,0)	0,234
Doença renal glomerulocística	-	-	1/5 (20,0)	-
Enterite	1/7 (14,3)	0,525	-	-
Epicardite	-	-	1/5 (20,0)	-
Esteatose hepática	10/10 (100,0)	0,577	4/6 (66,7)	1,000
Esteatose renal	8/9 (88,9)	0,564	4/5 (80,0)	1,000
Fascite mista	1/11 (9,1)	0,346	-	-
Fusão de corpos vertebrais	1/10 (10,0)	0,529	-	-
Hepatite	2/10 (20,0)	1,000	-	-
Leucocitose (coração)	2/6 (33,3)	-	-	-
Leucocitose (fígado)	2/10 (20,0)	-	-	-
Leucocitose (intestino)	1/7 (14,3)	-	-	-
Leucocitose (pulmão)	1/7 (14,3)	-	-	-
Leucocitose (rim)	1/9 (11,1)	-	-	-
Meningite	1/2 (50,0)	1,000	-	-
Miosite	2/11 (18,2)	0,346	-	-
Pancreatite	1/8 (12,5)	0,433	-	-
Pneumonia intersticial	1/7 (14,3)	0,480	-	-
Periostite	1/10 (10,0)	0,346	-	-
Necrose de coagulação (fibras musculares)	2/11 (18,2)	0,111	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.7 Cifose

Foram analisadas 16 *B. jararaca* e nove *C. durissus* acometidas por cifose (Tabela 7).

Tabela 7 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de cifose

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	1/16 (6,3)	1,000	-	-
Congestão de medula espinhal	1/10 (10,0)	0,231	-	-
Congestão hepática	4/15 (26,7)	0,662	-	-
Congestão intestinal	-	-	1/3 (33,3)	0,231
Congestão pancreática	-	-	1/3 (33,3)	0,273
Congestão pulmonar	3/13 (23,1)	0,679	1/5 (20,0)	1,000
Congestão renal	1/14 (7,1)	0,093	2/6 (33,3)	0,450
Dermatite	1/10 (10,0)	0,633	-	-
Dilatação tubular renal	1/14 (7,1)	0,093	3/6 (50,0)	1,000
Doença renal glomerulocística	-	-	2/6 (33,3)	-
Edema renal intersticial	-	-	2/6 (33,3)	0,050
Esofagite	1/15 (6,7)	0,308	-	-
Esteatose hepática	14/15 (93,3)	1,000	4/5 (80,0)	1,000
Esteatose renal	14/14 (100,0)	1,000	4/6 (66,6)	0,450
Fusão de corpos vertebrais	1/10 (10,0)	1,000	-	-
Leucocitose (coração)	1/15 (6,7)	-	-	-
Leucocitose (fígado)	1/15 (6,7)	-	1/5 (20,0)	-
Leucocitose (pâncreas)	1/12 (8,3)	-	-	-
Meningite	1/4 (25,0)	1,000	-	-
Miocardite	1/15 (6,7)	0,250	-	-
Rinite	1/4 (25,0)	0,295	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.8 Escoliose

Foram analisadas 11 *B. jararaca* e nove *C. durissus* acometidas por escoliose (Tabela 8).

Tabela 8 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de escoliose

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	-	-	2/9 (22,2)	1,000
Cisto esplênico	1/2(50,0)	0,095	-	-
Congestão hepática	3/5 (60,0)	0,068	-	-
Congestão intestinal	-	-	1/8 (12,5)	0,462
Congestão pancreática	-	-	1/7 (14,3)	1,000
Congestão pulmonar	1/6 (16,7)	1,000	1/8 (12,5)	0,550
Congestão renal	3/5 (60,0)	0,129	1/8 (12,5)	0,467
Dermatite	2/11 (18,2)	1,000	-	-
Desarranjo de musculatura periaxial	1/11 (9,1)	1,000	-	-
Dilatação tubular renal	1/5 (20,0)	0,539	5/8 (62,5)	1,000
Dilatação de ductos pancreáticos	1/6 (33,3)	0,143	-	-
Doença renal glomerulocística	1/5 (20,0)	0,372	3/8 (37,5)	-
Edema renal intersticial	1/5 (20,0)	0,249	2/8 (25,0)	0,467
Esplenite	1/2(50,0)	0,271	-	-
Esteatose hepática	5/5 (100,0)	0,465	-	-
Esteatose renal	2/5 (40,0)	1,000	-	-
Fusão de corpos vertebrais	1/11 (9,1)	1,000	-	-
Ganglionite	1/4 (25,0)	0,308	-	-
Leucocitose (fígado)	1/5 (20,0)	-	-	-
Leucocitose (pâncreas)	1/6 (16,7)	-	-	-
Meningite	1/4 (25,0)	1,000	-	-
Miosite	1/11 (9,1)	1,000	-	-
Necrose de coagulação em fibras musculares	1/11 (9,1)	1,000	-	-
Nefrite intersticial	1/5 (20,0)	0,281	-	-
Pancreatite	1/6 (16,7)	0,274	-	-
Rinite	1/4 (25,0)	0,295	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.9 Esquistossomia

Foram analisadas 13 *B. jararaca* e duas *C. durissus* acometidas por esquistossomia (Tabela 9).

Tabela 9 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de esquistossomia

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	2/13 (15,4)	0,429	-	-
Cisto esplênico	1/5 (20,0)	0,328	-	-
Congestão hepática	4/10 (40,0)	0,067	-	-
Congestão pulmonar	3/12 (25)	0,213	-	-
Congestão renal	3/8 (37,5)	0,340	-	-
Dermatite	3/10 (30,0)	0,658	-	-
Dilatação tubular renal	3/8 (37,5)	0,051	-	-
Dilatação de túbulos pancreáticos	1/10 (10,0)	0,262	-	-
Doença renal glomerulocística	3/8 (37,5)	0,285	1/1 (100,0)	-
Edema renal intersticial	1/8 (12,5)	0,539	-	-
Epicardite	-	-	1/1(100,0)	0,063
Esplenite	1/5 (20,0)	1,000	-	-
Esteatose hepática	8/10 (80,0)	0,070	1/1 (100,0)	1,000
Esteatose renal	8/8 (100,0)	0,096	1/1 (100,0)	1,000
Estomatite	1/4 (25,0)	0,214	-	-
Fascite	1/10 (10,0)	1,000	-	-
Ganglionite	1/4 (25,0)	0,532	-	-
Hemorragia hepática	1/10 (10,0)	0,231	-	-
Leucocitose (pâncreas)	1/10 (10,0)	-	-	-
Meningite	1/4 (25,0)	1,000	-	-
Miocardite	1/13 (7,7)	0,231	-	-
Necrose de coagulação em fibras musculares	2/10 (20,0)	1,000	-	-
Nefrite intersticial	2/8 (25,0)	0,102	-	-
Pancreatite	1/10 (10,0)	0,433	-	-
Periostite	1/10 (10,0)	1,000	-	-
Rinite	1/4 (25,0)	0,423	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.10 Fendas labiais

Foram analisada duas *B. jararaca* acometidas por fendas labiais (Tabela 10).

Tabela 10 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de fendas labiais

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Celomite	1/2 (50,0)	1,000
Congestão pulmonar	1/2 (50,0)	0,384
Esteatose hepática	2/2 (100,0)	1,000
Esteatose renal	1/2 (50,0)	1,000
Leucocitose (fígado)	1/2 (50,0)	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.11 Fusão de escamas ventrais

Foram analisadas dez *B. jararaca* e três *C. durissus* acometidas por fusão de escamas ventrais (Tabela 11).

Tabela 11 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de fusão de escamas ventrais

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Celomite	-	-	1/3 (33,3)	1,000
Congestão encefálica	1/1 (100,0)	0,154	-	-
Congestão hepática	2/9 (22,2)	0,163	-	-
Congestão pancreática	1/9 (11,1)	0,220	-	-
Congestão pulmonar	1/8 (12,5)	1,000	1/1 (100,0)	0,350
Congestão renal	1/7 (14,3)	1,000	-	-
Dermatite	2/9 (22,2)	0,405	-	-
Dilatação tubular renal	1/7 (14,3)	1,000	-	-
Embolização de vitelo em rim	1/7 (14,3)	0,149	-	-
Esplenite	1/4 (25,0)	0,386	-	-
Esteatose hepática	8/9 (88,9)	0,570	3/3 (100,0)	1,000
Esteatose renal	6/7 (85,7)	1,000	1/2 (50,0)	0,242
Leucocitose (coração)	2/9 (22,9)	-	-	-
Leucocitose (fígado)	1/9 (11,1)	-	-	-
Leucocitose (intestino)	1/5 (20,0)	-	-	-
Leucocitose (pulmão)	1/8 (12,5)	-	-	-
Meningite	1/1 (100,0)	1,000	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.12 Hidrocefalia

Foram analisadas sete *B. jararaca* acometidas por hidrocefalia (Tabela 12).

Tabela 12 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de hidrocefalia

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Celomite	1/7 (14,3)	1,000
Ceratoconjuntivite	1/1 (100,0)	1,000
Congestão encefálica	1/5 (20,0)	0,308
Congestão hepática	1/7 (14,3)	1,000
Congestão pulmonar	2/6 (33,3)	0,636
Congestão renal	3/7 (42,9)	0,277
Dermatite	2/5 (40,0)	0,136
Dermatite intraespectacular	1/5 (20,0)	1,000
Dilatação tubular renal	2/7 (28,6)	0,277
Doença renal glomerulocística	1/7 (14,3)	0,520
Esteatose hepática	6/7 (85,7)	0,530
Esteatose renal	5/7 (71,4)	0,440
Estomatite	1/5 (20,0)	0,357
Hemorragia hepática	1/7 (14,3)	0,137
Hemorragia submeníngica	1/5 (20,0)	-
Meningite	1/5 (20,0)	0,488
Miosite	1/5 (20,0)	0,192
Necrose de coagulação em fibras musculares	1/5 (20,0)	0,354
Nefrite intersticial	1/7 (14,3)	0,336
Pneumonia intersticial	1/6 (16,7)	0,398
Rinite	1/5 (20,0)	1,000

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

- para dado não disponível

5.4.1.13 Lordose

Foram analisadas seis *B. jararaca* e três *C. durissus* acometidas por lordose (Tabela 13).

Tabela 13 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* e *C. durissus* portadoras de lordose

Alterações histopatológicas	<i>B. jararaca</i>		<i>C. durissus</i>	
	n (%)	p	n (%)	p
Dermatite	1/5 (20,0)	1,000	-	-
Desarranjo da musculatura periaxial	2/5 (40,0)	0,049*	-	-
Celomite	2/6 (33,3)	0,202	-	-
Congestão hepática	2/5 (40,0)	0,159	-	-
Congestão pulmonar	1/6 (16,6)	1,000	-	-
Congestão renal	1/5 (20,0)	0,539	-	-
Dilatação tubular renal	1/5 (20,0)	0,539	-	-
Doença renal glomerulocística	1/5 (20,0)	0,372	-	-
Esteatose hepática	3/5 (60,0)	0,403	3/3 (100,0)	1,000
Esteatose renal	4/5 (80,0)	1,000	2/2 (100,0)	1,000
Fusão de corpos vertebrais	2/5 (40,0)	0,049*	-	-
Leucocitose (pulmão)	1/6 (16,6)	-	-	-

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

*estatisticamente significativo (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$)

- para dado não disponível

5.4.1.14 Malformação cefálica

Foram analisadas quatro *B. jararaca* acometidas por malformação cefálica (Tabela 14).

Tabela 14 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de malformação cefálica

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Celomite	1/4 (25,0)	1,000
Congestão pancreática	1/4 (25,0)	0,049*
Congestão renal	1/4 (25,0)	0,315
Dilatação tubular renal	1/4 (25,0)	0,315
Enterite	1/3 (33,3)	1,000
Esplenite	1/3 (33,3)	0,271
Esteatose hepática	4/4 (100,0)	1,000
Esteatose renal	2/4 (50,0)	1,000

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

*estatisticamente significativo (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$)

5.4.1.15 Prognatismo

Foram analisadas três *B. jararaca* acometidas por prognatismo (Tabela 15).

Tabela 15 – Alterações histopatológicas identificadas em *B. jararaca* portadoras de prognatismo

Alterações histopatológicas	n (%)	p
Congestão de medula espinhal	1/1 (100,0)	0,038*
Congestão hepática	1/3 (33,3)	0,394
Congestão renal	1/3 (33,3)	1,000
Edema intersticial em fibras musculares	1/1 (100,0)	1,000
Esteatose hepática	3/3 (100,0)	1,000
Esteatose renal	3/3 (100,0)	1,000
Hepatite	1/3 (33,3)	0,173
Meningite	1/1 (100,0)	0,115

n = número de positivos/número de analisados

p = significância estatística

*estatisticamente significativo (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$)

5.4.2 Alterações histopatológicas apresentadas pelo grupo controle

As alterações histopatológicas apresentadas pelas serpentes do grupo controle estão expostas na tabela 16, distribuídas por espécie, em número de positivos/número de analisados (n) e porcentagem (%).

Tabela 16 – Alterações histopatológicas apresentadas pelo grupo controle em número de positivos/número de analisados (n) e porcentagem (%)

Alteração histopatológica	<i>B. jararaca</i>	<i>C. durissus</i>
	n (%)	n (%)
Dermatite heterofílica focal severa	0 (0,0)	1/6 (16,7)
Esteatose hepática	4/6 (66,7)	4/6 (66,7)
Esteatose renal	6/6 (100,0)	5/6 (83,3)
Leucocitose heterofílica (baço)	0 (0,0)	1/6 (16,7)
Leucocitose heterofílica (coração)	2/6 (33,3)	1/6 (16,7)
Leucocitose heterofílica (fígado)	2/6 (33,3)	1/6 (16,7)
Leucocitose heterofílica (intestino)	1/6 (16,7)	0 (0,0)
Leucocitose heterofílica (pulmão)	1/6 (16,7)	1/6 (16,7)
Congestão pulmonar e pneumonia intersticial	1/6 (16,7)	0

n = número de positivos/número de analisados

5.4.3 Análise da densidade óssea em tecidos teratogênicos corados pela técnica de Von Kossa

Não foi encontrada diferença estatística significativa entre a densidade óssea apresentada pelo grupo de animais teratogênicos (n=3) e pelo grupo controle (n=3) (Mann-Whitney, $p=1,000$).

5.4.4 Documentação fotográfica e descrição das alterações histopatológicas

As alterações histopatológicas mais relevantes estão representadas nas figuras 59-94.

Figura 59 – Rim de *B. jararaca* (Bj13). Doença renal cística tubular severa, multifocal (HE)

Legenda: cistos renais (asteriscos).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 60 – Rim de *B. jararaca* (Bj13). Doença renal glomerulocística moderada, multifocal (HE)

Legenda: glomérulos renais distendidos (asteriscos).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 61 – Rim de *B. jararaca* (Bj14). Dilatação tubular renal e edema intersticial difuso (HE)

Legenda: dilatação tubular renal (asterisco preto) e edema renal intersticial difuso (asterisco vermelho).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 62 – Rim de *B. jararaca* (Bj53). Nefrite granulocítica moderada a severa, difusa (HE)

Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 63 – Rim de *B. jararaca* (Bj53). Nefrite intersticial granulocítica moderada a severa difusa (HE)

Nota: granulócitos migrando para o interior do túbulo renal distendido (setas).

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 64 – Rim de *B. jararaca* (Bj14). Dilatação tubular renal moderada, difusa e nefrite intersticial (GR)

Nota: presença de granulócitos no interstício (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 65 – Rim de *B. jararaca* (Bj14). Dilatação tubular renal, moderada, difusa (WS)

Legenda: tubulos renais distendidos (asteriscos).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 66 – Rim de *B. jararaca* (Bj43). Esteatose renal moderada, difusa (HE)

Legenda: alguns lipossomos em destaque (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 67 – Fígado de *B. jararaca* (Bj47). Esteatose hepática moderada, difusa (HE)

Nota: alguns lipossomos em destaque (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 68 – Rim de *C. durissus* (Cd14). Congestão renal moderada, difusa (HE)

Legenda: áreas de congestão (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 69 – Fígado de *B. jararaca* (Bj19). Congestão hepática moderada, multifocal (HE)

Nota: destaque para áreas de congestão (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 70 – Fígado de *B. jararaca* (Bj38). Hepatite granulocítica discreta a moderada, difusa (HE)

Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 71 – Fígado de *B. jararaca* (Bj55). Hemorragia hepática discreta a moderada, multifocal coalescente (HE)

Legenda: área de hemorragia (asterisco).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014)

Figura 72 – Intestino delgado de *B. jararaca* (Bj23). Enterite granulocítica discreta, difusa (HE)

Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N. C., 2014).

Figura 73 – Coração de *C. durissus* (Cd01). Epicardite mista, moderada, difusa (HE)

Nota: infiltrado inflamatório misto em epicárdio.
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 74 – Coração de *C. durissus* (Cd01). Epicardite mista, moderada, difusa (HE)

Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas pretas) e mononucleares (setas vermelhas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 75 – Coração de *B. jararaca* (Bj22). Miocardite granulocítica discreta a moderada, difusa (HE)

Legenda: granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 76 – Cavidade celomática de *B. jararaca* (Bj13). Celomite focal, mista, moderada (HE)

Nota: Celomite por corpo estranho – vitelo (seta).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 77 – Pulmão de *B. jararaca* (Bj47). Pneumonia intersticial granulocítica, discreta a moderada, difusa (HE)

Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 78 – Pulmão de *B. jararaca* (Bj27). Congestão pulmonar moderada difusa (HE)

Nota: áreas de congestão pulmonar (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 79 – Baço de *B. jararaca* (Bj53). Cisto esplênico (HE)

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 80 – Pâncreas de *B. jararaca* (Bj53). Distensão de ductos pancreáticos (HE)

Legenda: ductos pancreáticos distendidos (asteriscos).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 81 – Medula espinhal de *B. jararaca* (Bj61). Congestão medular multifocal moderada (HE)

Nota: destaque para áreas de congestão (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 82 – Medula espinhal de *B. jararaca* (Bj61). Meningite granulocítica difusa, discreta a moderada (HE)

Nota: presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 83 – Meninges de *B. jararaca* (Bj61). Menin-
gite granulocítica difusa, discreta a moderada (HE)

Nota: presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 84 – Gânglio neural de *B. jararaca* (Bj11). Gan-
glionite granulocítica focal, discreta a moderada (HE)

Nota: presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 85 – Cavidade oral de *B. jararaca* (Bj65). Estomatite mista, expansiva, discreta a moderada (HE)

Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas
vermelhas) e mononucleares (setas pretas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 86 – Pele de *B. jararaca* (Bj70). Dermatite
necrótica, granulocítica, abscedante, multifocal (HE)

Nota: presença de abscesso (asterisco) localizado entre
as escamas (E).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 87 – Olho de *B. jararaca* (Bj09). Ceratite gra-
nulocítica, severa, difusa (HE)

Legenda: Espectáculo (ES) e córnea (C).
Nota: destaque para a presença de granulócitos (setas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 88 – Espectáculo de *B. jararaca* (Bj09). Der-
matite granulocítica intra-espectacular severa difusa
com presença de colônias bacterianas (HE)

Nota: destaque para a presença de bactérias (setas pre-
tas) e granulócitos (setas vermelhas).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 89 – Coluna de *B. jararaca* (Bj15). Fusão de corpos vertebrais (HE)

Nota: corpos vertebrais fusionados (asteriscos).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 90 – Músculo esquelético de *B. jararaca* (Bj15). Desarranjo de musculatura periaxial (HE)

Nota: fibras musculares dispostas em vários sentidos.
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 91 – Musculatura esquelética de *B. jararaca* (Bj12). Edema intersticial difuso, discreto a moderado em fibras musculares periaxiais (HE)

Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 92 – Musculatura esquelética de *B. jararaca* (Bj12). Edema intersticial difuso, discreto a moderado em fibras musculares periaxiais (HE)

Legenda: áreas de edema intersticial (asteriscos).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 93 – Calota craniana de *B. jararaca* (Bj61). Hemorragia submeningeana moderada difusa (HE)

Legenda: Calota craniana (C), foco hemorrágico (he).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

Figura 94 – Esquistossomia em *B. jararaca* (Bj53). Fígado exteriorizado (HE)

Legenda: fígado (F), escama (E), meio externo (EX) e cavidade celomática (CC).
Foto: (CARVALHO, M. P. N., 2014).

6 DISCUSSÃO

Crotalus durissus

6 DISCUSSÃO

6.1 ANÁLISE DA AMOSTRAGEM

Durante a pesquisa foram estudadas 102 serpentes portadoras de malformações congênitas, coletadas entre os anos de 2007 e 2013. Parte dos animais estudados na presente dissertação é objeto de estudo da tese de doutorado de Sávio Sant'Anna e constitui a fonte primária de informação originalmente publicada (SANT'ANNA et al, 2013). Este número representa um expressivo esforço amostral, considerando que serpentes portadoras de teratogênias são animais particularmente difíceis de serem obtidos, principalmente devido ao efeito deletério destas lesões sobre os indivíduos acometidos e à sua baixa prevalência. Em *B. jararaca* e *C. durissus*, as teratogênias estão presentes em cerca de 3% dos nascimentos, como descrito por Sant'Anna et al. (2013).

As malformações externas documentadas nesta pesquisa não diferem das anomalias já identificadas em outras espécies de répteis, corroborando os dados publicados na literatura (BELLAIRS, 1981; FRYE, 1991c; WEBB; MANOLIS, 1998; HOSER; GIBBONS, 2003; HUCHZERMEYER, 2003; KRECSÁK, 2008). Entretanto, a singularidade deste estudo remete à origem, à faixa etária e ao número dos animais examinados, bem como ao método de análise aplicada na caracterização das malformações.

A verificação quanto à presença ou ausência das teratogênias foi realizada logo após o nascimento dos indivíduos, sendo possível afirmar que todas as lesões documentadas compreenderam processos teratogênicos verdadeiros. Por serem serpentes originárias de mães de vida livre, o perfil destas malformações provavelmente representa os eventos que ocorrem nas populações selvagens destas espécies. Ainda, o número de indivíduos amostrados permitiu que testes estatísticos fossem realizados, admitindo análises até então não envolvidas no estudo morfológico das malformações congênitas em serpentes.

6.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS LESÕES DE COLUNA

Dentre as teratogênias catalogadas, as anomalias de coluna compreenderam as malformações mais frequentes nas duas espécies estudadas, constituindo desde simples pontos de escoliose até formas complexas de cifoescolioses e cifolordoses (dados já publicados por SANT'ANNA et al., 2013). Na tentativa de estabelecer padrões morfológicos para estas lesões, testes estatísticos baseados em dados morfométricos (Apêndice B) foram realizados, relacionando a distribuição das malformações axiais por cada segmento da coluna, bem como correlações entre a localização e a angulação de desvio destas lesões.

A análise dos dados permitiu verificar que serpentes da espécie *B. jararaca* apresentaram lesões de coluna distribuídas de maneira uniforme pelo eixo axial, não havendo nenhuma predileção no que diz respeito à localidade destas malformações. Entretanto, em *C. durissus* as teratogênias se apresentaram em maior frequência no terço final da coluna.

Segundo Sant'Anna et al. (2013), teratogênias localizadas na porção posterior da coluna não interferem diretamente no processo de apreensão e deglutição de presas, o que parece comprometer em menor grau o desenvolvimento destas serpentes em vida livre. Esta suposição se sustenta pelo encontro, mesmo que raro (0,005% e 0,001% para jararacas e cascavéis, respectivamente; Grego e Sant'Anna, dados não publicados) apud Sant'Anna et al. 2013, p. 505, de animais adultos na natureza, portadores de cifose ou algum tipo discreto de escoliose na região posterior do corpo.

Os graus de desvio das teratogênias também foram mensurados (Apêndice B), permitindo a realização de testes de correlação entre o local e o grau de desvio angular destas lesões. Nesta análise, nenhuma diferença estatística significativa foi verificada, concluindo que o grau de desvio das malformações de coluna, em cascavéis e jararacas, independe do seu local de apresentação. Ainda, comparando-se as angulações das lesões apresentadas por *B. jararaca* e *C. durissus*, nota-se que as jararacas apresentaram lesões axiais mais severas que as cascavéis.

Análise de correlação entre o grau de desvio, número de lesões e o sexo dos indivíduos acometidos também foi realizada, certificando que as fêmeas de *C. durissus* apresentaram lesões mais severas e em maior número que os machos da mesma espécie. Em *B. jararaca*, fêmeas e machos não apresentaram diferenças estatísticas quanto ao número e ao grau de desvio destas lesões. De forma análoga às cascavéis, malformações de coluna em humanos são mais frequentes e mais severas em pessoas do sexo feminino (JANSSEN, 2009). Os

motivos para esta predileção de ocorrência de teratogênias de coluna em fêmeas são obscuros e demandam estudos mais detalhados. No nosso conhecimento, o presente trabalho é o primeiro a mostrar correlação de incidência destas teratogênias com o sexo dos indivíduos acometidos.

Em linhas gerais, estes resultados proveem um cenário inicial sobre a forma de apresentação, a intensidade, a distribuição e possíveis consequências das malformações de coluna sobre os indivíduos e populações de *B. jararaca* e *C. durissus*. Estudos adicionais abordando a análise morfométrica destas lesões em outras espécies e/ou situações são sugeridos a fim de complementar os resultados obtidos, colaborando com a elucidação sobre o comportamento macroscópico destas malformações em serpentes.

6.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS MICROTOMOGRÁFICOS

Muitos estudos envolvendo a morfologia dos ossos têm sido realizados com o auxílio da microtomografia. Alterações morfológicas são tradicionalmente estudadas por meio de mensurações feitas em duas dimensões, em que os parâmetros estruturais são inspecionados visualmente ou analisados por meio de seções transversais das amostras (MÜLLER et al., 1998). O método convencional de histomorfometria envolve uma cuidadosa preparação do material a ser analisado, seguido de seções amostrais em sessões bem finas. Apesar de ser um método que provê excelente resolução espacial e alto contraste, trata-se de uma técnica demorada e que necessita mão-de-obra especializada (MÜLLER et al., 1998).

Müller et al. (1998) realizaram um estudo com o objetivo de comparar os parâmetros morfométricos obtidos através da microtomografia e da histomorfometria convencional. Nesta pesquisa foram avaliadas uma série de biópsias ósseas humanas, ambas através da microtomografia e da histomorfometria. Após a geração das sessões pela técnica de histomorfometria, estas foram digitalizadas, sendo capturadas por uma câmera acoplada a um microscópio, posteriormente binarizadas e tratadas da mesma forma que as obtidas através da microtomografia. Os resultados demonstraram a presença de uma alta correlação ($r = 0,71 - 0,86$) e boa precisão (diferença média: 2,2% - 6,1%) entre os dois métodos (MÜLLER et al., 1998).

Em trabalho realizado com ratas, Boyd et al. (2006) monitoraram a evolução de alterações ósseas presentes em ratas ovariectomizadas. Os exames microtomográficos foram realizados para avaliação da tíbia direita de cada animal, em intervalos de um mês, durante seis meses. Este trabalho demonstra a possibilidade de realizar medidas histomorfométricas *in vivo* através da microtomografia, com a vantagem de que cada animal possa ser seu próprio controle.

Além de estudos em tecidos biológicos, outras aplicações também já foram realizadas na indústria, como descrito por Oliveira et al. (2003), que quantificaram parâmetros morfométricos em filtros de cerâmica usados em indústrias metalúrgicas. Recentemente a microtomografia está sendo aplicada na pesquisa paleontológica como auxílio na avaliação morfológica de fósseis de dinossauros (DARDON et al., 2010).

A utilização da microtomografia como método auxiliar na caracterização macroscópica das teratogênias em serpentes foi eficiente, permitindo uma avaliação mais aprofundada das alterações ósseas relacionadas direta ou indiretamente com as características externas das malformações. Na tentativa de prover a representatividade do grupo amostral, serpentes portadoras de malformações envolvendo anoftalmia, bicefalia, buftalmia, cauda enrodilhada, ciclopia, cifoesciose, hidrocefalia, lordose, malformação cefálica e prognatismo foram selecionadas para realização dos exames microtomográficos.

A qualidade das imagens tridimensionais e a possibilidade de interação em 360 graus proporcionaram a identificação de alterações até então não relacionadas a estas malformações, complementando as informações já descritas em literatura.

6.3.1 Anomalias oculares

No indivíduo portador de buftalmia foi identificada a presença de uma cavidade orbitária maior e mais rasa, ipsilateral ao olho protruído, quando comparada à cavidade contralateral. Ainda, alterações na conformação dos ossos cranianos adjacentes, como a diminuição dos ossos pré-frontal, frontal e pós-frontal, e o alargamento das suturas fronto-parietais, também foram identificadas.

De forma semelhante, alterações morfológicas dos ossos cranianos também estiveram presentes nas serpentes portadoras de anoftalmia e ciclopia. Nestes animais foi verificada

diminuição das cavidades orbitárias e alterações morfológicas nos ossos ectopterigoide, nasal, frontal, parietal, pré-maxilar e mandibular.

Bellairs (1965) descreveu o caso de um lagarto ciclope da espécie *Lacerta lepida*, em que os globos oculares se apresentavam juntos e localizados na região rostral do crânio, alterando a conformação das narinas, que possuíam sua abertura voltada para superfície ventral da coana. Esta forma de anomalia satisfaz os critérios de arinencefalia, caracterizado pelo encurtamento da maxila e pela ausência de narinas externas, semelhante ao encontrado na serpente BjMct03.

Estudos envolvendo crianças e animais domésticos demonstram que o aumento volumétrico dos tecidos que compõe o globo ocular, característico em casos de buftalmia, bem como sua diminuição em anoftalmias e ciclopias, promovem respectivamente, aumento e diminuição das cavidades orbitárias e consequente desarranjo morfológico dos ossos cranianos adjacentes (LO et al., 1990; CEPELA; NUNERY; MARTIN, 1992; EPPLEY; HOLLEY; SADOVE, 1993; HEINZ; CLUNIE; MULLANEY, 1998). Isto ocorre, pois a presença e o tamanho do globo ocular funcionam como principais parâmetros no desenvolvimento da cavidade orbitária e dos ossos adjacentes (LO et al., 1990; CEPELA; NUNERY; MARTIN, 1992; EPPLEY; HOLLEY; SADOVE, 1993; HEINZ; CLUNIE; MULLANEY, 1998).

Apesar de estudos sobre o desenvolvimento dos ossos do crânio em serpentes serem ausentes em literatura, a similaridade entre as alterações encontradas em serpentes, gatos e humanos portadores de buftalmia e anoftalmia, sugere que o processo de organogênese e origem das alterações morfológicas oftálmicas sejam semelhantes.

Em sua maioria, as anomalias oculares dos répteis compreendem alterações raras que parecem ocorrer de forma causal sendo, talvez, o resultado de combinações genéticas com condições ambientais desfavoráveis (SZABO, 1989d; FRYE, 1991c).

6.3.2 Hidrocefalia

A incidência de hidrocefalia em répteis é baixa, sendo raramente descrita na literatura. Sant'Anna et al. (2013) descrevem a hidrocefalia em serpentes como uma dilatação do crânio, caracterizada pelo desenvolvimento de uma estrutura abaulada na parte superior da cabeça.

De forma complementar aos dados publicados por Sant'Anna et al. (2013), a análise microtomográfica permitiu a identificação dos ossos diretamente envolvidos neste tipo de malformação (parietal, temporal e occipital) além de possibilitar observações como o adelgaçamento dos ossos comprometidos e o alargamento das suturas cranianas, principalmente nos parietais. Alterações morfológicas nas cavidades orbitárias, bilateralmente, também foram observadas, demonstrando que as hidrocefalias em serpentes apresentam alterações morfológicas mais complexas do que evidenciam externamente.

De forma semelhante, em animais domésticos acometidos por hidrocefalia, os ossos do crânio apresentam alargamento das suturas cranianas e hipoplasia (adelgaçamento) dos ossos que constituem a calota craniana (SZABO, 1989b). A hidrocefalia congênita nestes animais é frequentemente acompanhada por malformações encefálicas como, a agenesia do corpo caloso e defeitos cerebelares, e em menor frequência por anomalias cardíacas, faciais, palatais, esqueléticas urogenitais e vertebrais (SZABO, 1989b).

A incidência de hidrocefalia em animais domésticos pode ser causada por fatores genéticos, infecciosos, nutricionais e diversas condições ambientais (SZABO, 1989b). Alguns poluentes como o mercúrio e os organosulfurados derivados de combustíveis fósseis, são apontados como indutores experimentais da hidrocefalia em ratos e camundongos (MURAKAMI, 1972; KHERA; IVERSON, 1980). Neste contexto, a participação de poluentes ambientais na incidência de hidrocefalia em serpentes de vida livre não deve ser descartada.

6.3.3 Bicefalias

A bicefalia foi analisada microtomograficamente em três indivíduos, diferindo entre si em relação ao local da bifurcação axial.

A serpente BjMct09 foi caracterizada externamente pela presença de quatro narinas, porém com o restante da morfologia cefálica dentro dos padrões normais (Figura 23). Tal característica a classifica como *rinodymus* (nariz duplo), segundo Smith e Perez-Higareda (1988).

As características externas deste indivíduo foram complementadas pelo exame microtomográfico, demonstrando a duplicação dos ossos nasal, pré-maxilar e mandibular. Um achado inesperado foi a presença dos ossos mandibulares duplicados, sendo a mandíbula

secundária posicionada em sentido transversal ao eixo mandibular principal (Figura 56B). Ainda, foi descrita a presença de alterações morfológicas nos ossos pré-frontal e frontal.

Uma condição de bicefalia semelhante à descrita acima foi reportada em serpentes da espécie *Pelamis platura* por Boettger (1898)⁸ apud Wallach (2003, p. 68) e em *Natrix natrix*, por Kincel (1969)⁹ apud Wallach (2003, p. 68).

Na serpente BjMct06 o ponto de bifurcação axial se posicionou de forma mais caudal, quando comparado ao indivíduo BjMct09. Neste caso, quatro globos oculares estavam presentes (Figura 22) e os crânios se apresentavam fundidos por meio dos ossos surungular, supra-occipital, occipital, basioccipital e basiesfenóide. Condição de bicefalia similar foi descrita em *C. durissus* por Wiley (1930)¹⁰ apud Wallach (2003, p. 68), porém sem nenhuma menção aos ossos envolvidos na malformação.

No indivíduo BjMct07, o ponto de bifurcação se localizava na região proximal da coluna. Neste animal as colunas duplicadas eram compostas por 18 corpos vertebrais. Serpentes da espécie *Bothrops jararacussu* e *Bothrops atrox* foram descritas apresentando bicefalia decorrentes de colunas duplas, apresentando, respectivamente 20 e 27 corpos vertebrais, em cada segmento duplicado (NAKAMURA, 1938; BELLUOMINI, 1965). Ainda, baseado em exames radiográficos, Wallach (2003) afirma que o número de vertebbras que compõe as colunas duplicadas em serpentes bicefálicas pode variar de um a 77.

6.3.4 Lesões de coluna

Lesões de coluna como cifose, cifoesciose, escoliose e lordose foram caracterizadas microtomograficamente por seus desvios ao longo do eixo axial. Alterações nos corpos vertebrais como hemivértebras, espinha bífida, duplicação de costelas e fusão da cabeça de algumas costelas foram identificadas de forma associada a estes desvios (CdtMct10).

Hemivértebras relacionadas à anquiloses de corpos vertebrais, com duplicação de costelas também esteve presente em outros répteis como *Python sebae*, *Tropidonotus*, *Pythin molururs*, *Pelamis platura*, *Gavialis*, *Coluber*, *Diadophis punctatus*, *Natrix natrix*, *Elaphe*,

⁸ BOETTGER, O. Katalog der reptilien-sammlung im Museum der Senckenbergischen naturforschenden Gesellschaft in Frankfurt am Main. II. Teil (Schlangen). Gebrüder Kanuer, Frankfurt am Main. 1898. 160p.

⁹ KINCEL, F. Ein fall von Duplicitas anterior bei *Natrix natrix* L. Jb. Naturwiss. Abt. Steiermärk. Landesmus. Joanneum, Graz 1969. p. 16-18.

¹⁰ WILEY, G. O. Notes on the neotropical rattlesnake (*Crotalus terrificus basiliscus*) in captivity. **Bulletin of the Antivenin Institute of America**, v.3, n. 4, p. 100-103, 1930.

Lampropeltis, *Rhadinaceae* e *Thamnophis* (BAUR, 1891¹¹ apud ROTHSCILD, 2009, p. 65); (KING, 1959¹² apud ROTHSCILD, 2009, p. 65).

A hemivértebra é uma malformação que pode ser causada por um deslocamento hemimetamérico dos somitos, ou pela vascularização e ossificação errônea da vértebra, resultando em escoliose e na ausência de fusão dos corpos vertebrais (OLIVER; HORLEIN; MAYHEW, 1987).

Efeitos de substâncias teratogênicas são bem documentados como causas de malformações do tubo neural (MARQUES et al., 2012). Exemplos são o ácido valproico em ratos e humanos, a griseofulvina em felinos e o azul de tripan também em ratos (MARQUES et al., 2012). Mesmo não havendo informações na literatura sobre a participação de substâncias diversas na indução deste processo em serpentes, não se pode descartar a possibilidade de contaminantes ambientais exercerem um papel no surgimento da espinha bífida em serpentes de vida livre.

6.3.4.1 Cauda enrodilhada

As anomalias de cauda enrodilhada foram analisadas microtomograficamente na serpente BjMct11; nesta serpente foi verificada presença de cifose em espiral e escoliose, com ausência de deformidades nos corpos vertebrais. Além da possível etiologia genética, existem estudos que apontam a temperatura anormal de incubação, nas fases iniciais do desenvolvimento embrionário, como uma possível etiologia na apresentação desta anomalia (FRYE, 1991c).

6.3.5 Malformações cefálicas

As malformações cefálicas foram analisadas microtomograficamente na serpente BjMct05, caracterizada macroscopicamente pela presença de prognatismo e assimetria

¹¹ BAUR, G. On intercalation of vertebrae. **Journal of morphology**, v. 4, p. 329-336, 1891

¹² KING, W. Vertebra duplication, an osteological anomaly widespread in snakes. **Herpetologica**, v. 15, p. 87-88, 1959.

mandibular. Uma deformidade inesperada, identificada pela microtomografia, foi a presença de fissura craniana, caracterizada pela agenesia dos ossos frontal, parietal e occipital.

Malformações como a meningoencefalocele foram primeiramente descritas em répteis por Hibberd (1996) e Webb e Manolis (1998) em espécies de crocodilos. Em ratos a incidência destas lesões está relacionada a fatores genéticos e à ocorrência espontânea, porém induções experimentais foram realizadas com a exposição fetal à radiação ionizável (SZABO, 1989b).

6.4 ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS

Como estudo complementar à caracterização macroscópica das lesões congênitas, 173 lâminas histológicas foram confeccionadas a partir de material colhido de 102 serpentes teratogênicas e analisadas sob microscopia de luz. As alterações identificadas foram contabilizadas e distribuídas de acordo com a malformação congênita e a espécie dos indivíduos acometidos. Por meio de testes estatísticos (teste Exato de Fisher, com significância para $p < 0,05$), os achados histopatológicos foram correlacionados com as malformações observadas macroscopicamente.

6.4.1 Correlação entre braquignatia e doença renal cística

Correlação significativa foi verificada entre braquignatia e a incidência de alterações renais, como a doença renal cística tubular e doença renal glomerulocística (Tabela 2).

Segundo Frye (1991c), os cistos renais solitários ou múltiplos têm sido encontrados em muitas espécies de répteis, sendo a maioria localizada no córtex ou na junção córtico-medular. A etiologia dos cistos renais nestes animais é desconhecida, entretanto, parecem ser decorrentes de anomalias congênitas ou de defeitos hereditários, mediados por genes alelos autossômicos.

Em humanos e animais domésticos, o cisto renal simples consiste em um achado incidental comum e geralmente não apresenta significado clínico; porém, em raras situações, podem causar complicações indiretas como hemorragias, infecções, ruptura ou carcinomas, os

quais crescem a partir da parede do cisto (HARTMAN, 1989; NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2007). Em animais de experimentação, vários tipos de substâncias químicas têm sido associados à presença de cistos renais, entre eles as bifenilas policloradas (PCBs) (MAXIE; NEWMAN, 2007). Apesar dos dados em literatura relacionarem a incidência da braquignatia em serpentes apenas com alterações de temperatura durante o desenvolvimento embrionário, a aparente correlação com malformações renais atribui um possível envolvimento de causas químicas (poluentes) e hereditárias à sua manifestação. Talvez, uma complexa interação entre fatores genéticos (hereditários) e ambientais (poluentes e temperatura) esteja envolvida na incidência da braquignatia nestes animais. Estudos complementares são necessários para avaliar esta possibilidade.

6.4.2 Correlação entre buftalmia, dermatite intraespectacular, ceratoconjuntivite e hepatite

Serpentes com buftalmia apresentaram correlação significativa com a incidência de ceratoconjuntivite, dermatite intraespectacular e hepatite (Tabela 3).

A defesa da córnea contra as agressões ambientais é realizada por meio de sua localização anatômica (proteção mecânica oferecida pela órbita) e por diversos reflexos nervosos, além do filme lacrimal (WILCOCK, 2009). Em razão dos olhos buftálmicos não serem devidamente acomodados no interior da órbita, ocorre maior exposição de estruturas oculares, como o espectáculo e a própria córnea, que ficam sujeitos a traumatismos e infecções. Esta exposição pode ocasionar um quadro denominado ceratite secundária por exposição (WILCOCK, 2009). Com a progressão da infecção, a inflamação pode atingir também o espectáculo e as conjuntivas, instalando-se o quadro de ceratoconjuntivite e de dermatite intraespectacular (FRYE, 1991c; WILCOCK, 2009).

A relação entre hepatite e infecções oculares é citada em animais domésticos e humanos, respectivamente na uveíte associada à hepatite infecciosa canina (PONTES; VIANA; DUARTE, 2006) e nas ceratites e esclerites humanas correlacionadas às infecções pelo vírus da hepatite – C (BARATZ; FULCHER; BOURNE, 1998; KEDHAR et al., 2007). No presente estudo não foi possível identificar uma causa específica para esta associação. Porém, em que pese a distinção etiopatogênica com as situações acima citadas, não é possível

descartar a possibilidade de haver a participação de algum agente etiológico na correlação aqui detectada. Estudos futuros são necessários para esclarecer essa possibilidade.

6.4.3 Correlação entre lordose, desarranjo da musculatura periaxial e fusão de corpos vertebrais

A maioria das serpentes com anomalias de coluna apresentaram alterações histopatológicas semelhantes, como o desarranjo da musculatura periaxial e fusão dos corpos vertebrais. Entretanto, correlação estatística significativa foi firmada apenas entre estes achados e os animais portadores de lordose (Tabela 13).

O desarranjo estrutural da coluna promove, de forma concomitante, uma desorganização das fibras musculares periaxiais, as quais são apresentadas histologicamente de forma desordenada (Figura 90). Em algumas situações, as pressões exercidas pela anatomia disforme promove alteração na circulação sanguínea local, ocasionando necrose de coagulação em pontos da musculatura, edema e miosites não infecciosas (VALENTINE; McGAVIN, 2009).

Alterações semelhantes como desarranjo, atrofia e necrose muscular, foram reportados por Hernández (1998) em coelhos portadores de escoliose.

6.4.4 Outras alterações

6.4.4.1 Congestão da medula espinhal e meningite, relacionada à cifose, escoliose e cifoescoliose

O desenvolvimento de anomalias ósseas tais como malformação atlanto-occipital e deformidades vertebrais como escoliose, lordose e cifose, pode resultar em compressão das estruturas presentes no canal medular, como as meninges e a medula espinhal (ZACHARY, 2009).

A compressão no tecido do sistema nervoso central promove uma disfunção neuronal por impedir o fluxo axoplasmático anterógrado e retrógrado normal nos axônios (MENEZES, 2004; ZACHARY, 2009). Em adição, a compressão pode resultar em fluxo sanguíneo reduzido aos nervos e em quadros inflamatórios assépticos, contribuindo para a ocorrência de disfunções teciduais (ZACHARY, 2009). Compressão discreta pode resultar em bloqueio parcial do fluxo axoplasmático e acúmulo gradual dos neurofilamentos e microtúbulos, que resultam em leve tumefação do axônio proximal ao local de compressão e atrofia do axônio distal à compressão. Eventualmente, com um longo período de tempo de bloqueio completo, o axônio distal é perdido (MENEZES, 2004; ZACHARY, 2009).

A compressão mecânica pode levar ainda a uma série de outras reações teciduais, incluindo a formação de edema, desmielinização, inflamação e fibrose (RYDEVIK; BROWN; LUNDBORG, 1984; YOSHIZAWA; KOBAYASHI; MORITA, 1995). Outros estudos relatam ainda consequências como o aumento da permeabilidade microvascular dos capilares endoneurais e a instalação de processos inflamatórios intraradiculares (YOSHIZAWA et al., 1977; RYDEVIK et al., 1991).

Algumas serpentes portadoras de cifose, escoliose e cifo escoliose apresentaram de forma concomitante meningite e congestão da medula espinhal. Apesar de não ter sido verificada correlação estatística, o desenvolvimento de anomalias ósseas de coluna, tais como escoliose, lordose e cifose, pode resultar na compressão da medula espinhal (ZACHARY, 2009), e por consequência, na instalação de processos inflamatórios nas meninges e congestão do tecido nervoso medular.

6.4.4.2 Cisto esplênico

Os cistos esplênicos são descritos em literatura como consequência aos estágios intermediários da infecção por *Echinococcus granulosa* e *Cysticercus tenuicollis* em animais selvagens (FRYE, 1991a; FRY; MCGAVIN, 2009).

Em humanos, são classificados em primários e secundários, de acordo com a sua etiologia (PEDDU; SHAH; SIDHU, 2004).

O cisto esplênico primário é caracterizado basicamente por apresentar uma parede composta por epitélio linear (PEDDU; SHAH; SIDHU, 2004). Os cistos esplênicos secundários aparentemente estão relacionados a infecções por parasitas ou a causas não

infecciosas (epiteliais) (PEDDU; SHAH; SIDHU, 2004). Cistos epiteliais são encontrados principalmente em crianças e adultos jovens, apresentando etiologia congênita (PEDDU; SHAH; SIDHU, 2004). De forma distinta, cistos esplênicos secundários possuem origem traumática, apresentando sangue, debris celulares, fibrose e calcificação da parede cística (PEDDU; SHAH; SIDHU, 2004).

O cisto esplênico apresentado nesta pesquisa segue as características do cisto esplênico primário. Sua presença esteve associada à malformações como escoliose e esquistossomia em *B. jararaca*.

6.4.4.3 Hemorragia submeningeana correlacionada à hidrocefalia

Dentre as serpentes que apresentavam hidrocefalia, 20% apresentaram hemorragia submeningeana. Apesar de não ter havido correlação estatística significativa entre esta alteração histopatológica e a hidrocefalia, há relatos em literatura descrevendo a hemorragia submeningeana como consequência do aumento da pressão intracraniana característica dos quadros de hidrocefalia em animais domésticos (ZACHARY, 2009).

6.4.4.4 Edema renal intersticial

O edema renal intersticial esteve presente em animais portadores de braquignatia, cifose, escoliose e esquistossomia. Segundo Frye (1991a), esta alteração renal tem sido comumente encontrada em quelônios terrestres e iguanas, entretanto, sua causa permanece obscura. Seu achado parece estar relacionado a desordens metabólicas e quadros de intoxicação crônica (FRYE, 1991a), e demandam investigação complementar.

6.4.4.5 Nefrite intersticial

Conceitua-se nefrite intersticial como sendo aquela em que a maioria dos componentes inflamatórios compromete o tecido conjuntivo existente entre os túbulos renais e os glomérulos (FRYE, 1991a). Esta forma de inflamação renal é caracterizada pela infiltração leucocitária focal ou multifocal dentro e entre os elementos epiteliais dos rins (FRYE, 1991a). Heterófilos associados a mononucleares são comumente vistos à microscopia óptica neste tipo de processos (FRYE, 1991a).

A nefrite intersticial pode ser infecciosa ou não infecciosa (NEWMAN; CONFER; PANCIERA, 2009). Nesta pesquisa, colorações especiais como Grocott e Whartin Starry foram realizadas para pesquisa de fungos e bactérias, respectivamente. Nenhuma das lâminas analisadas apresentou estruturas compatíveis com fungos ou bactérias, sugerindo que as nefrites intersticiais documentadas possuem natureza congênita associada a braquignatia, escoliose, esquistossomia e hidrocefalia em *B. jararaca*. Trabalhos complementares são necessários para elucidar esta situação.

6.5 ALTERAÇÕES APRESENTADAS PELO GRUPO CONTROLE

Alterações microscópicas, como esteatose hepática e renal, foram os achados mais frequentes observadas nos dois grupos amostrados (controle e teratogênicos). Em répteis neonatos a esteatose, renal e/ou hepática, compreende um achado histológico frequente, consequente à fase fisiológica de absorção vitelínica, em que há uma grande quantidade de material lipídico sendo absorvido e metabolizado (MCLELLAND, 1979).

A congestão pulmonar esteve presente tanto em animais teratogênicos quanto saudáveis, e sua ocorrência pode estar relacionada ao método de eutanásia utilizado durante a pesquisa. Em estudo realizado em ratos (*Rattus norvegicus*), camundongos (*Mus musculus*), porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*) e coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), Feldman e Gupta (1976) citam a superexposição ao dióxido de carbono (CO₂) como responsável por alterações pulmonares variadas, compreendendo desde congestões capilares discretas a edema pulmonar intramural das artérias pulmonares e pneumonias intersticiais discretas.

Os quadros de leucocitose encontrados em diversos órgãos dos animais teratogênicos, e também do grupo controle, podem ser decorrentes de estímulos antigênicos não definidos pela pesquisa, estresse generalizado ou como resposta fisiológica.

A leucocitose fisiológica em animais domésticos está relacionada a um aumento do número de neutrófilos maduros e, em menor grau, linfócitos maduros (linfocitose fisiológica). A neutrofilia é induzida pela epinefrina, com duração de algumas horas. A causa da linfocitose é especulada como sendo resultado de alterações na cinética de recirculação, retornando ao normal em algumas horas. Ansiedade e esforço físico, que podem ocorrer no momento da contenção física, são responsáveis pela liberação de epinefrina e aumento do fluxo sanguíneo (MEYER; COLES; RICH, 1995).

6.6 ANÁLISE COMPARATIVA DA DENSIDADE ÓSSEA ENTRE TECIDOS TERATOGÊNICOS E SAUDÁVEIS

Análise comparativa entre as densidades ósseas apresentadas por indivíduos teratogênicos e saudáveis foi realizada por meio da coloração de Von Kossa, com posterior análise em *software* para análise de imagens, Image J[®]. Nesta análise não foi verificada diferença estatística significativa, sugerindo que a composição da matriz óssea nos animais portadores de teratogenias não difere da matriz dos indivíduos saudáveis. Assim, a desmineralização óssea parece não estar envolvida nas anomalias de coluna (cifose, cifoescoliose, cifose e lordose) em filhotes de *B. jararaca* e *C. durissus*.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Bothrops jararaca

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Bothrops jararaca e *Crotalus durissus* são serpentes abundantes na natureza e bem adaptadas às alterações ambientais promovidas pela ação antrópica, sendo comumente encontradas tanto em áreas preservadas quanto em áreas destinadas à agricultura (MELGAREJO, 2003). As características adaptativas destas espécies são favoráveis à sobrevivência no meio-ambiente modificado, porém as tornam susceptíveis à exposição de resíduos e poluentes derivados das atividades antrópicas. Considerando o hábito carnívoro e a longevidade relativamente alta, as serpentes são animais altamente susceptíveis à bioacumulação de poluentes ambientais, apontados como potenciais promotores de teratogênias (WILLINGHAM, 2005).

A incidência das malformações congênitas em filhotes de serpentes *B. jararaca* e *C. durissus* registradas pelo Instituto Butantan, provenientes de mães de vida livre, aumentou de forma aparente entre os anos de 2004 a 2013, período que coincide com a intensificação do uso agrícola do solo na região sudeste do Brasil (ALBERGONI; PELAEZ, 2007). Este dado faz da poluição ambiental atribuída ao uso de defensivos agrícolas, uma causa plausível para a incidência das teratogênias nestes animais. Assim, estudos em andamento no LAPCOM (trabalho de doutoramento de Sávio Sant'Anna) assim como futuras investigações são necessários para esclarecer esta possibilidade. As malformações congênitas refletem o *status* da saúde dos indivíduos, de suas populações e de seus habitats, o que torna seu estudo uma ferramenta útil na avaliação da saúde ambiental.

Métodos utilizados nesta pesquisa, como a análise microtomográfica das teratogênias, viabilizaram o registro de alterações até então não relacionadas às malformações congênitas nestes animais, demonstrando sua aplicabilidade no estudo destas malformações. No que concerne à histopatologia, a pesquisa promoveu a validação do protocolo de descalcificação no processamento histológico de tecidos ósseos em serpentes, além de apresentar o cenário inicial das alterações viscerais encontradas em viperídeos neotropicals portadores de teratogênias.

Creemos que os dados aqui apresentados constituem uma base sólida e útil de informações para estudos futuros no campo da patologia, teratologia, embriologia e ecotoxicologia em serpentes.

REFERÊNCIAS

- AHBOUCHA, S.; GAMRANI, H. Differences in protein expression in the subcomissural organ of normal and lordotic lizards (*Agama impalearis*). **Metabolic Brain Disease**, v. 16, p. 219-226, 2001.
- ALBERGONI, L.; PELAEZ, V. Da revolução verde à agrobiotecnologia: ruptura ou continuidade de paradigmas? **Revista de Economia**. v. 31, p. 31-54, 2007.
- ALDEMAN, H. B. The problem of cyclopia. Parts I and II. **Quarterly Review of Biology**. v. 11, p. 284-304, 1936.
- ALEXANDER, N. J.; FAHRENBACK, W. H. The dermal chromatophores of *Anolis carolinensis* (Reptilia: Iguanidae). **American Journal of Anatomy**, v. 126, p. 41-55, 2005.
- ANDRADE, D. V.; ABE, A. S. Malformações em ninhadas de caiaçaca, *Bothrops moojeni* (Serpentes: Viperidae). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 54, p. 61-67, 1993.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Cardiovascular system. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001a. cap. 6, p. 71-81.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Digestive system. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001b. cap. 8, p. 97-136.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Introduction. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001c. cap. 1, p. 9-20.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Lymphatic system. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001d. cap. 15, p. 247-262.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Muscle. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001e. cap. 5, p. 65-70.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Nervous system. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001f. cap. 13, p. 215-226.
- AUGHEY, E.; FRYE, F. L. Urinary system. In: AUGHEY, E.; FRYE, F. L. **Comparative veterinary histology with clinical correlates**. Ames: Iowa state university press, 2001g. cap. 9, p. 137-148.
- BARATZ, K. H.; FULCHER, S. F. A.; BOURNE, W. M. Hepatitis C – associated keratitis. **Archives of Ophthalmology**, v. 116, n. 4, p. 529-530, 1998.
- BARLETT, J. H. Microorganisms. In: BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 6. ed. Philadelphia: Elsevier. 2008. cap. 17, p. 309-331.

- BAUMAN, M. A.; METTER, D. E. Reproductive cycle of the northern watersnake, *Natrix s. sipedon* (Reptilia, Serpentes, Colubridae). **Journal of Herpetology**, v. 11, p. 51-59, 1977.
- BECHTEL, H. B.; BECHTEL, E. Albinism in the snake *Elaphe obsoleta*. **Journal of Herpetology**, v. 15, n. 4, p. 397-402, 1981.
- BECHTEL, H. B.; BECHTEL, E. Color mutations in the corn snake (*Elaphe guttata guttata*): review and additional breeding data. **Journal of Heredity**, v. 80, n. 4, p. 272-276, 1989.
- BELLAIRS, A. d'A.; BOYD, J. D. Anomalous cleft palate in snake embryos. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 129, p. 525-539, 1957.
- BELLAIRS, A. d'A. Cleft palate, microphthalmia and other malformations in embryos of lizards and snakes. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 144, p. 239-251, 1965.
- BELLAIRS, A. d'A. Congenital and developmental diseases. In: COOPER, J. E.; JACKSON, O. F. **Diseases of the reptilia**. London: Academic Press, 1981. v. 2, cap. 14, p. 469-485.
- BELLAIRS, A. d'A.; GAMBLE, H. J. Cleft palate microphthalmia and other anomalies in an embryo lizard (*Lacerta vivipara*). **British Journal of Herpetology**, v. 2, p. 171-176, 1960.
- BELLUOMINI, H. E. Bicefalia em *Xenodon merremii* (Wagier 1824) (Serpentes). **Memórias do Instituto Butantan**. v. 28, p. 85-89, 1959.
- BÉRNILS, R. S. Brazilian reptiles: - list of species. Sociedade brasileira de herpetologia. 2010. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br/>>. Acesso em: 11 set. 2013.
- BILLY, A. J. Developmental deformities in the parthenogenetic lizard *Cnemidophorus uniparens* (Teiidae) and the “anomalous male” phenomenon. **Canadian Journal of Zoology**, v. 64, p. 2418-2424, 1986.
- BLACKBURN, D. G. Chorioallantoic placentation in squamate reptiles: structure, function, development, and evolution. **The Journal of Experimental Zoology**, v. 266, p. 414-430, p. 1993.
- BOCKMAN, D. G. The thymus. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of the reptilia**. New York: Academic Press. 1970. v. 3-c, p. 111-133.
- BOYD, S. K.; DAVISON, P.; MÜLLER, R.; GASSER, J. A. Monitoring individual morphological changes over time in ovarietomized rats by *in vivo* micro-computed tomography. **Bone**, v. 39, p. 854-862, 2006.
- BRENT, R. L. Environmental factors: miscellaneous. In: BRENT, R. L.; HARRIS, M. I. **Prevention of embryonic, fetal, and perinatal disease**. Bethesda: Dhew publication, 1976. 853 p.
- BROWDER, L. W. Genetic and embryological studies of albinism in *Rana pipiens*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 180, p. 149-155, 1972.
- BURTNER, H. J.; FLOYD, A. D.; LONGLEY, J. B. Histochemistry of the “sexual segment” granules of the male rattlesnake kidney. **Journal of Morphology**, v. 116, p. 189-196, 1965.

CALLIS, G. M. Bone. In: BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2008. cap. 18, p. 333-363.

CARVALHO, L. F. C. S.; NEVES, A. C. C.; RICARDO, L. H.; RODE, S. M.; MARTINS, A. M. A. Tempo de descalcificação e preservação do núcleo celular de tecido mineralizado descalcificado com ácido nítrico a 5%, EDTA a 7% e biodec-R. **Revista Periodontia**, v. 18, n. 2, p. 71-76, 2008.

CEPELA, M. A.; NUNERY, W. R.; MARTIN, R. T. Stimulation of orbital growth by the use of expandable implants in the anophthalmic cat orbit. **Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 8, p. 157-167, 1992.

COOPER, J. E. Exophthalmia in a rhinoceros viper (*Bitis nasicornis*). **Veterinary Record**, v. 97, p. 130-131, 1975.

CUNHA, O. R. Um teratodimo em jiboia [*Constrictor constrictor* (Linnaeus, 1766)] (Ophidia; Boidae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Série Zoologia**, v. 67, p. 1-17, 1968.

DARDON, U.; SOUZA, R. S.; ABRANCHES, C. T. S.; BERGQVIST, L. P. M. Modelagem 3D e suas aplicações na pesquisa paleontológica. **Journal of Geoscience**, v. 6, n. 2, p. 76-89, 2010.

DEAN, J. N.; GLENN, J. L.; STRAIGHT, R. C. Bilateral cleft labial and palate in the progeny of a *Crotalus viridis viridis*. **Herpetological Review**, v. 11, n. 4, p. 91-92, 1980.

DIONG, C. H.; TAN, L. K. A.; LEH, C. M. U. Axial bifurcation in a bicephalic *Chelonia mydas* embryo. **Chelonian Conservation and Biology**, v. 4, p. 725-727, 2003.

DUDA, P. L.; GUPTA, V. K. A kyphotic individual of *Lissemys punctata punctata* (Bonaterre). **Herpetological Review**, v. 8, n. 4, p. 119-120, 1977.

DUEFEL, A.; CUNDALL, D. Prey transport in “palatine-erecting” elapid snakes. **Journal of Morphology**, v. 258, p. 358-375, 2003.

ENSLEY, P. K. Ophthalmic disorders in three snakes. **Journal of Zoo and Animal Medicine**, v. 9I, n. 2, p. 48, 1978.

EPPLEY, B. L.; HOLLEY, S.; SADOVE, A. M. Experimental effects of intraorbital tissue expansion on orbitomaxillary growth in anophthalmos. **Annals of Plastic Surgery**, v. 31, p. 19-26, 1993.

EWERT, M. A. The embryo and its egg: development and natural history. In: HARLESS, M.; MORLOCK, H. **Turtles: perspectives and research**. New York: John Wiley, 1979. p. 333-413.

FARRELL, A. P.; GAMPERL, A. K.; FRANCIS, E. T. B. Comparative aspects of heart morphology. In: GANS, C.; GAUNT, A. S. **Biology of the reptilian**. Missouri: Society for the Study of Reptiles and Amphibians, 1998. v. 19. p. 1-92.

FEDERSONI, P. A. J.; Casos teratogênicos em *Bothrops atrox* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 42-43, p. 46-64, 1981.

FELDMAN, D. B.; GUPTA, B. N. Histopathologic changes in laboratory animals resulting from various methods of euthanasia. **Laboratory Animal Science**, v. 26, p. 218-221, 1976.

FELDMAN, M. L. *Chelydra serpentine*: morphology: bicephalic individual. **Herpetological Review**, v. 14, n. 2, p. 47-48, 1983.

FORSMAN, A.; RINGBLUM, K.; CIVANTOS, E.; AHNESJÖ, J. Coevolution of color pattern and thermoregulatory behavior in polymorphic pygmy grasshoppers *Tetrix undulate*. **Evolution**, v. 56, p. 349-360, 2002.

FOX, W. Effect of temperature on development of scutellation in the garter snake, *Thamnophis elegans atratus*. **Copeia**, n. 4, p. 252-262, 1948.

FOX, W.; GORDON, C.; FOX, M. H. Morphological effects of low temperatures during embryonic development of the garter snake *Thamnophis elegans*. **Zoologica**, v. 46, p. 57-71, 1961.

FRANCO, F. L. Origem e diversidade das serpentes. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, H. F.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil, biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 3, p. 13-32.

FRY, M. M.; MCGAVIN, M. D. Medula óssea, células sanguíneas e sistema linfático. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. cap. 13, p. 743-832.

FRYE, F. L. Biomedical and surgical aspects of captive reptiles husbandry. In: EDWARDSVILLE, K. S. **Biomedical and surgical aspects of captive reptiles husbandry**. [S.l.]: Veterinary Medicine Publishing, 1981. p. 311-331.

FRYE, F. L. Common pathologic lesions and diseases processes. In: FRYE, F. L. **Reptile care: an atlas of diseases and treatments**. New Jersey: T.F.H. publications, 1991a. v. 2, cap. 16, p. 529-619.

FRYE, F. L. Comparative histology. In: FRYE, F. L. **Reptile care: an atlas of diseases and treatments**. New Jersey: T. F. H. Publications, 1991b. v. 2, cap. 14, p. 473-512.

FRYE, F. L. Developmental anomalies. In: FRYE, F. L. **Reptile care: an atlas of diseases and treatments**. New Jersey: T.F.H. Publications, 1991c. v. 2, cap. 11, p. 393-419.

FRYE, F. L. Ophthalmic conditions. In: FRYE, F. L. **Reptile care: an atlas of diseases and treatments**. New Jersey: T.F.H. Publications, 1991d. v. 2, cap. 9, p. 329-344.

FRYE, F. L.; CARNEY, J. D. Achondroplastic dwarfism in a turtle. **Veterinary Medicine Small Animal Clinician**, v. 69, p. 299-301, 1974.

FRYE, F. L.; DUTRA, F. R. Multiple osteochondilaginous exostoses in a monitor lizard. **Veterinary Medicine/Small Animal Clinic**, v. 68, p. 1414-1416, 1973.

FU, J.; MACCULLOCH, R. D.; MURPHY, R. W.; DAREVSKY, I. S.; KUPRIYANOVA, L. A., DANIELYAN, F. The parthenogenetic rock lizard *Lacerta unisexualis*: an example of limited genetic polymorphism. **Molecular Evolution**, v. 46, p. 127-130, 1998.

GAMBLE, M. The hematoxylin and eosin. In: BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2008. cap. 9, p. 121-134.

GIUFFRÈ, M.; CORSELLO, G. Congenital malformations. **The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 25, n. 1, p. 25-29, 2012.

GREGO, K. F.; ALVES, J. A. S.; ALBUQUERQUE, L. C. R.; FERNANDES, W. Referências hematológicas para a jararaca de rabo branco (*Bothrops leucurus*) recém-capturadas da natureza. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1240-1243, 2006.

GROSS, J.; SCHMOLZ, E.; HILKER, M. Thermal adaptations of the leaf beetle *Chrysomela lapponica* (Coleoptera: Chrysomelidae) to different climes of Central and Northern Europe. **Environmental Entomology**, v. 33, p. 799-806, 2004.

GUTHE, K. F. Reptilian muscle: fine structure and physiological parameters. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of the reptilia**. New York: Academic press. 1981. p. 265-354.

HALL, P. M. Brachycephalic growth and dental anomalies in the New Guinea crocodile (*Crocodylus novaeguineae*) **Journal of Herpetology**, v. 19, p. 300-303, 1985.

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.

HARTMANN, P. A.; HARTMANN, M. T.; GIASSEN, L. O. Uso do habitat e alimentação em juvenis de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil. **Phyllomedusa**, v. 2, n. 1, p. 35-41, 2003.

HASCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G. Fetus. In: HASCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G. **Fundamentals of toxicologic pathology**. San Diego: Academic Press, 1998. cap. 17, p. 515-541.

HASCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G.; WALLIG, M. A. Developmental pathology. In: HASCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G.; WALLIG, M. A. **Fundamentals of toxicologic pathology**. 2. ed. London: Academic Press, 2010. cap. 20, p. 633-671.

HEINZ, G. W.; CLUNIE, D. A.; MULLANEY, P. B. The effect of buphthalmos on orbital growth in early childhood: increased orbital soft tissue volume strongly correlates with increased orbital volume. **American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus**, v. 2, n. 1, p. 39-42, 1998.

HERNANDÉZ, F. Paravertebral muscles in experimental scoliosis, a light electron microscopic study. **Histology and Histopathology**, v. 13, n. 4, p. 927-937, 1998.

HIBBERD, E. M. Abnormalities in eggs, embryos and juvenile farmed estuarine crocodiles *Crocodylus porosus*. In: WORKING MEETING OF THE CROCODILE SPECIALIST

GROUP. IUCN, 13., 1996, Glande, Suíça. **Proceedings...** Glande, Suíça: The world conservation union, 1996. p. 290-295.

HOLFERT, T. Double heads (bicephaly) in *Rhacodactylus auriculatus* (Bavay, 1869). **Elaphe**, v. 7, p. 13, 1999.

HOSER, R.; GIBBONS, D. A bicephalic coastal Queensland carpet snake, *Morelia spilota mcdowelli* (Serpentes: Phylonidae). **Herpetofauna**, v. 33, p. 111, 2003.

HUCHZERMEYER, F. W. Diseases of eggs and hatchlings. In: HUCHZERMEYER, F. W. **Crocodiles: biology, husbandry and diseases**. Cambridge: CABI publishing, 2003. cap. 4, p. 139-156.

JACKSON, F. J.; INGRAM, W. III; CAMPBELL, H. W. The dorsal pigmentation pattern of snakes as an antipredator strategy: a multivariate approach. **American Naturalist**, v. 110, p. 1029-1053, 1976.

JACOBSON, E. R. Overview of reptile biology, anatomy, and histology. In: JACOBSON, E. R. **Infectious diseases and pathology of reptiles**. Boca Raton: CRC press. 2007. cap. 1, p. 1-130.

JANSSEN, M. M.; DREVELLE, X.; HUMBERT, L.; SKALLI, W.; CASTELEIN, R. M. Differences in male and female spino-pelvic alignment in asymptomatic young adults: a three-dimensional analysis using upright low-dose digital biplanar X-rays. **Spine**, v. 34, n. 23, p. 826-832, 2009.

JENSEN, B.; WANG, T. Hemodynamic consequences of cardiac malformations in two juvenile ball pythons (*Python regius*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 40, p. 752-756, 2009.

JOHNSON, P. T. J.; REEVES, M. K.; KREST, S. K.; PINKEY, A. E. A decade of deformities: advances in our understanding of amphibian malformations and their implications. In: SPARLIG, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C. A.; KREST, S. K. **Ecotoxicology of amphibians and reptiles**. 2. ed. Boca Raton: CRC press, 2010. cap. 16, p. 511-536

JONES, T. C. Genetic and developmental disorders in zoo animals. In: MIGAKI, G.; MONTALI, R. J. **The comparative pathology of zoo animals**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1980. p. 453-455.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia e seus métodos de estudo. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 1-22.

KALTER, H. Teratology in the 20th century. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, p. 131-282, 2003.

KALTER, H.; WARKANY, J. Congenital malformations. Etiologic factors and their role in prevention. **New England Journal of Medicine**, v. 308, p. 424-431, 1983.

KAR, S. K.; BUSTARD, H. R. Embryonic tail deformation in the saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*, Schneider) in Orissa, India. **British Journal of Herpetology**, v. 6, p. 221-222, 1982.

KEDHAR, S. R.; BELAIR, M. L.; JUN, A. S.; SULKOWSKI, M.; THORNE, J. E. Scleritis and peripheral ulcerative keratitis with hepatitis C virus-related cryoglobulinemia. **Archives of Ophthalmology**, v. 125, n. 6, p. 852-853, 2007.

KENNEDY, R. E. The effect of early enucleation on the orbit in animals and humans. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 62, p. 459-472, 1964.

KEOGH, J. S.; SCOTT, I. A. W.; HAYES, C. Rapid and repeated origin of insular gigantism and dwarfism in Australian tiger snakes. **Evolution**, v. 59, p. 226-233, 2005.

KHERA, K. S.; IVERSON, F. Hydrocephalus induced by N-nitrosoethylenethiourea in the progeny of rats treated during gestation. **Teratology**, v. 21, p. 367-370, 1980.

KRECSÁK, L. Albinism and leucism among European viperinae: a review. **Russian Journal of Herpetology**, v. 15, n. 2, p. 97-102, 2008.

LANDMANN, L. Keratin formation and barrier mechanisms in the epidermis of *Natrix natrix* (Reptilia: Serpentes): an ultrastructural study. **Journal of Morphology**, v. 162, p. 93-126, 1979.

LEIPOLD, H. W. Congenital defects in zoo and wild mammals: a review. In: MONTALI, R.; MIGAKI, G. **The comparative pathology of zoo animals**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1980. p. 457-470.

LEIPOLD, H. W. Genetic defects and their similarities to birth defects caused by plants. In: CONFERENCE ON POISONOUS PLANTS, 1977. **Proceedings...** New York: Academic Press. 1978, p. 429-440.

LEIPOLD, H. W.; DENNIS, S. M.; HUSTON, K. Polydactyly in cattle. **Cornell Veterinary University**, v. 62, p. 337-345, 1972.

LEMA, T. Descrição de dois espécimes bicéfalos de *Liophis miliaris* (Linnaeus, 1758) (Serpentes, Colubridae). **Inheringia série Zoologia**, v. 61, p. 67-79, 1982.

LICHT, P.; BENNETT, A. F. A scaleless snake: tests of the role of reptilian scales in water loss and heat transfer. **Copeia**, v. 1972, n. 4, p. 702-707, 1972.

LO, A. K.; COLCLEUGH, R. G.; ALLEN, L.; VAN WYCK, L.; BITE, U. The role of tissue expanders in anophthalmic animal model. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 86, n. 3, p. 399-408, 1990.

MADERSON, P. F. A. Some developmental problems of the reptile integument. In: GANS, C.; BILLET, F.; MADERSON, P. F. A. **Biology of the reptilian**. New York: John Wiley and Sons, 1985. p. 523-598.

- MARION, K. R.; COX, W. A. *Sternotherus depressus*: coloration (xanthic). **Herpetological Review**, v. 15, n. 2, p. 51, 1984.
- MARYAN, B. A note on bicephalic death adder. **Herpetofauna**, v. 31, p. 73, 2001.
- MARQUES, D. S. M.; RAMOS, C. H.; FREITAS, A. B.; SOUZA JÚNIOR, P. Espinha bífida oculta em um sagui-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata*). **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 15, p. 58-62, 2012.
- MARQUES, A. R.; SAZIMA, I. História natural das serpentes. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, H. F.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos do Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Savier, 2003. p. 62-71.
- MATHUR, J. K.; GOEL, S. C. A note on a tailless embryo of the lizard *Calotes versicolor*. **Brazilian Journal of Herpetology**, v. 5, p. 420-422, 1974.
- MATUSHIMA, E. R. Técnicas necroscópicas. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2007. p. 980-990.
- 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.
- McLELLAND, J. Digestive system. In: KING, J.; McLELLAND, J. **Form and function in birds**. London: Academic Press, 1979. v. 1. p. 69-182.
- MELGAREJO, A. R. Serpentes peçonhentas do Brasil. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, H. F.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR., V. **Animais peçonhentos no Brasil, biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 4, p. 33-61.
- MENEZES, A. H. Evaluation and treatment of congenital and developmental anomalies of the cervical spine. **Journal of Neurosurgery Spine**, v.1, n.2, p. 188-197, 2004.
- MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária**. São Paulo: Roca, 1995. 308 p.
- MILLER, M. R.; LAGIOS, M. D. The pâncreas. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. **Biology of the reptilia**. New York: Academic Press, 1970. v. 13, p. 319-346.
- MÜLLER, R.; CAMPENHOUT, H. V.; DAMME, B. V.; PERRE, G. V.; DEQUEKER, J.; HILDELBRAND, T.; RÜEGSEGG, P. Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological section and micro-computed tomography. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 56-66, 1998.
- MURAKAMI, U. The effect of organic mercury on intrauterine life. In: KLINGBERG, M. A.; ABRAMOVICI, A.; CHEMKE, J. **Drugs and fetal development**. New York: Plenum, 1972. p. 301-336.

NAKAMURA, K. Studies on some specimens of double monsters of snakes and tortoises. **Memories of the college of science, Kyoto Imperial University (Series B)**, v. 14, p. 171-191, 1938.

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Sistema urinário. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009. cap. 11, p. 613-691.

OLIVEIRA, L. F.; LOPES, R. T. 3D Histomofometric quantification from 3D computed tomography. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A**, v. 525, p. 406-411, 2004.

OLIVER, J. E.; HORLEIN, B. F.; MAYHEW, I. G. **Veterinary neurology**. Philadelphia: Saunders Company, 1987. cap. 82, p. 399-412.

ÓROS, J.; RODRÍGUEZ, J. L.; MONTEROS, A.; RODRÍGUEZ, F.; HERRÁEZ, P.; FERNÁNDES, A. Tracheal malformation in a bicephalic honduran milk snake (*Lampropeltis hondurensis*) and subsequent fatal *Salmonella arizonae* infection. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 28, p. 331-335, 1997.

OSBORNE, D.; HADDEN, O. B.; DEEMING, L. W. Orbital growth after childhood enucleation. **American Journal of Ophthalmology**, v. 77, p. 756-759, 1974.

PALMIERI, C.; SELLERI, P.; Di GIROLANO, N.; MONTANI, A.; DELLA-SALDA, L. Multiple congenital malformations in a dicephalic spur-thighed tortoise (*Testudo graeca ibera*). **Journal of Comparative Pathology**, v. 149, p. 368-371, 2013.

PEDDU, P.; SHAH, M.; SIDHU, P. S. Splenic abnormalities: a comparative review of ultrasound, microbubble-enhance ultrasound and computed tomography. **Clinical Radiology**, v. 59, n. 9, p. 777-792, 2004.

PENDELEBURY, G. B. Congenital defects in the brood of a prairie rattlesnake. **Canadian Journal of Zoology**, v. 54, p. 2023-2025, 1976.

PEREZ-HIGAREDA, G. Albinism in *Crotophanes hernandezii* (Lacertilia: Iguanidae). **Bulletin of the Maryland Herpetological Society**, v. 16, n. 3, p. 97-98, 1980.

PFEIFER, R. L. The effect of enucleation on the orbit. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 49, p. 23-29, 1945.

PLETICHA, P. Micro-anatomical analysis of a congenital head duplication of a lizard (*Lacerta agilis* L.). **Vestník Československe Zoologické Společnosti** v. 32, p. 232-236, 1968.

POLAK, S. J.; CANDIDO, S.; LEVENGOOD, S. K. L.; JOHNSON, A. J. W. Automated segmentation of micro-CT images of bone formation in calcium phosphate scaffolds. **Computerized Medical Imaging and Graphics**, v. 36, p. 54-56, 2012.

RICHES, R. J. Notes on a clutch of eggs of the viperine snake (*Natrix maura*). **British Journal of Herpetology**, v. 4, p. 14-16, 1967.

ROMER, A. S. The skull in the various reptiles groups. In: ROMER, A. S. **Osteology of the reptiles**. Malabar: Krieger publishing Company, 1997. cap. 4, p. 84-190.

ROTHSCHILD, B. Scientifically rigorous reptile and amphibian osseous pathology: lessons for forensic herpetology from comparative and paleo-pathology. **Applied Herpetology**, v. 6, p. 47-79, 2009.

ROTHSCHILD, B. M.; SCHULTZE, H.; PELLEGRINI, R. **Herpetological osteopathology**: annotated bibliography of amphibians and reptiles. New York: Springer, 2012. 461 p.

RUBINO, G. A. **Avaliação da eficiência de sistemas rotatórios na desobturação de canais, através da microtomografia de raios-X**. 2012. 86 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

RYDEVIK, B.; BROWN, M. D.; LUNDBORG, G. Pathoanatomy and pathophysiology of nerve root compression. **Spine**, v. 9, p. 7-15, 1984.

RYDEVIK, B.; PEDOWITZ, R. A.; HARGENS A. R.; SWENSON, M. R.; MYERS, R. R.; GARFIN, S. R. Effects of acute, graded compression on spinal nerve root function and structure; and experimental study of the pig cauda equine. **Spine**, v. 16, p. 487-493, 1991.

SANT'ANNA, S. S.; GREGO, K. F.; LORIGADOS, C. A. B.; FONSECA-PINTO, A. C. B. C.; FERNANDES, W.; SÁ-ROCHA, L. C.; CATÃO-DIAS, J. L. Malformations in neotropical viperids: qualitative and quantitative analysis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 149, p. 503-508, 2013.

SCOTT, H. H. Congenital malformations of the kidney in reptiles, birds, and mammals. **Journal of Zoology**, v. 95, p. 1259-1269, 1925.

SELCER, K. W. Reptile ecotoxicology: studying the effects of contaminants on populations. In: GARDNER, S. C.; OBERDÖRSTER, E. (Ed.). **Toxicology of reptiles**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005. cap. 10, p. 267-298.

SILVA, F. A.; ASSIS, C. L.; QUINTELA, F. M. Albinism in a *Liophis miliaris* (Linnaeus, 1758) (Serpentes: Dipsadidae) from Minas Gerais State, Southern Brazil. **Herpetology Notes**, v. 3, p. 171-172, 2010.

SMITH, D. B. Aberrant pattern/coloration in *Elaphe subocularis*. **Herpetology Review**, v. 14, n. 2, p. 47, 1983.

SMITH, H. M., PÉREZ-HIGAREDA, G. The literatura on somatodichotomy in snakes. **Bulletin of Maryland Herpetological Society**, v. 23, p. 139-153, 1987.

STOKARD, C. R. Developmental rate and structural expression: an experimental study of twins, double monsters and single deformities, and the interactions among embryonic organs during their origin and development. **American Journal of Anatomy**. v. 28, p. 115-277, 1921.

SZABO, K. T. Alimentary and digestive systems. In: SZABO, K. T. **Congenital malformations in laboratory and farm animals**. San Diego: Academic Press, 1989a. cap. 11, p. 192-213.

SZABO, K. T. Central nervous system. In: SZABO, K. T. **Congenital malformations in laboratory and farm animals**. San Diego: Academic Press, 1989b. cap. 8, p. 95-143.

SZABO, K. T. Etiology of congenital malformations. In: SZABO, K. T. **Congenital malformations in laboratory and farm animals**. San Diego: Academic Press, 1989c. pt. 1, p. 1-2.

SZABO, K. T. Sensory systems. In: SZABO, K. T. **Congenital malformations in laboratory and farm animals**. San Diego: Academic Press, 1989d. cap. 15, p. 245-268.

SZABO, K. T. Skeletal system. In: SZABO, K. T. **Congenital malformations in laboratory and farm animals**. San Diego: Academic Press, 1989e. cap. 9, p. 144-183.

TANAKA, K. Thermal aspects of melanistic and striped morphs on the snake *Elaphe quadrivirgata*. **Zoological Science**, v. 22, p. 1173-1179, 2005.

TÓTH, T.; GÁL, J.; ÚJVÁRI, B.; MADSEN, T.; Severe malformation in neonate *Vipera ursinii rakosiensis*. **Amphibia-Reptilia**, v. 26, p. 388-390, 2005.

TROIANO, J. C.; ROMÁN, L. H. Diseases encountered in genus *Caiman* intensive breeding. In: WORKING MEETING OF THE CROCODILE SPECIALIST GROUP IUCN, 13., 1996, Glande, Suíça. **Proceedings...** Glande, Suíça: The World Conservation Union, 1996. p. 328-341.

TYTLE, T., GRIMPE, R.; PICKERING, D.; PUTNAM, L. *Phelsuma madagascarensis kochi*: twining (Koch's day gecko). **Herpetological Review**, v. 15, n. 2, p. 49, 1984.

PONTES, K. C. S.; VIANA, J. A.; DUARTE, T. S. Etiopatogenia da uveíte associada a doenças infecciosas em pequenos animais. **Revista Ceres**, v. 53, n. 309, p. 618-626, 2006.

VALENTINE, B. A.; MCGAVIN, M. D. Musculo esquelético. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. cap.15, p. 973-1040.

VILLA, J. Three albino snakes from Nicaragua: an update. **Herpetology Review**, v. 12, n. 3, p. 81, 1981.

XUE-FENG, Y.; XIAO-LONG, T.; FENG, Y.; DE-JIU, Z.; YING, X.; CUI, W.; QIANG, C. Influence of ambient temperature on maternal thermoregulation and neonate phenotypes in a viviparous lizard, *Eremias multiocellata*, during the gestation period. **Journal of Thermal Biology**, v. 36, p. 187-192, 2001.

ZACHARY, J. F. Sistema nervoso. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. cap. 14, p. 833-971.

ZANOTTI, L. C. R. A. **Aspectos hematológicos, bioquímicos, morfológicos e citoquímicos de células sanguíneas em Viperídeos neotropicais dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* mantidos em cativeiro**. 2007. 178 f. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

WALLACH, V. Axial bifurcation and duplication in snakes. Part I. A synopsis of authentic and anecdotal cases. **Bulletin of the Maryland Herpetological Society**, v. 43, p. 57-95, 2007.

WALLACH, V. See live mutant snakes right here. **Natural New England**, v. 16, p. 50-55, 2003.

WARKANY, J. Etiology of congenital malformations. **Advances in Pediatrics**, v. 2, p. 1-63, 1947.

WEBB, G. J. W.; MANOLIS, C. *Crocodylus johnsoni* in the McKinlay river area, N. T. V. abnormalities and injuries. **Australian Wildlife Research**, v. 10, p. 407-420, 1983.

WEBB, G. J. W.; MANOLIS, C. **Australian crocodiles: a natural history**. Sidney: New Holland Publishers, 1998. p. 105, 160p.

WILCOCK, B. P. Olhos, pálpebras, conjuntiva e órbita. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. Bases da patologia em veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009 cap. 20, p.1349-1413.

WILLINGHAM, E. Developmental and reproductive effects. In: GARDNER, S. C.; OBERDÖRSTER, E. (Ed.). **Toxicology of reptiles**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005. cap. 6, p. 149-172.

WU, J.; STAFFENBERG, D. A.; MULLIKEN, J. B.; SHANSKE, A. L. Disprosopus: a unique case and review of the literature. **Teratology**, v. 66, p. 282-287, 2002.

YOSHIZAWA, H.; KOBAYASHI, S.; SHIZU, N.; et al. Intraradicular edema formation as a basic factor in lumbar radiculopathy. In: WEINSTEIN, J. **Low back pain. A scientific and clinical overview**. [S.l]: Academy of Orthopaedic Surgeons, 1977. p. 235-246.

YOSHIZAWA, H.; KOBAYASHI, S.; MORITA, T. Chronic nerve root compression; pathophysiologic mechanism of nerve root dysfunction. **Spine**, v. 20, p. 397-407, 1995.

APÊNDICE A Malformações congênitas distribuídas por indivíduo, de acordo com a espécie e o sexo.

(Continua)

Identificação	Espécie	Sexo	Malformações
Bj 01	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifoescoliose, fusão de escamas ventrais e malformação cefálica
Bj 02	<i>B. jararaca</i>	Macho	bicefalia
Bj 03	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	anomalia de pigmentação e fusão de escamas ventrais
Bj 04	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifoescoliose
Bj 05	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	fusão de escamas ventrais
Bj 06	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada
Bj 07	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cifoescoliose
Bj 08	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifoescoliose
Bj 09	<i>B. jararaca</i>	Macho	buftalmia
Bj 10	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cifoescoliose
Bj 11	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	anoftalmia, cauda enrodilhada e escoliose
Bj 12	<i>B. jararaca</i>	Macho	escoliose e prognatismo
Bj 13	<i>B. jararaca</i>	Macho	braquignatia
Bj 14	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	braquignatia
Bj 15	<i>B. jararaca</i>	Macho	escoliose
Bj 16	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	hidrocefalia
Bj 17	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	esquistossomia
Bj 18	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada e cifoescoliose
Bj 19	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada e cifose
Bj 20	<i>B. jararaca</i>	Macho	fenda labial e fusão de escamas ventrais
Bj 21	<i>B. jararaca</i>	Macho	anomalia de pigmentação e cifoescoliose
Bj 22	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada, cifose e esquistossomia
Bj 23	<i>B. jararaca</i>	Macho	buftalmia
Bj 24	<i>B. jararaca</i>	Macho	fenda labial
Bj 25	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose e esquistossomia

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Malformações
Bj 26	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose e esquistossomia
Bj 27	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose e esquistossomia
Bj 28	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	fusão de escamas ventrais
Bj 29	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose e nanismo
Bj 30	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda incompleta
Bj 31	<i>B. jararaca</i>	Macho	buftalmia
Bj 32	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada
Bj 33	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cifose e esquistossomia
Bj 34	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	esquistossomia
Bj 35	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada
Bj 36	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cifose e esquistossomia
Bj 37	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda incompleta
Bj 38	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	buftalmia
Bj 39	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada
Bj 40	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada
Bj 41	<i>B. jararaca</i>	Macho	fusão de escamas ventrais
Bj 42	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifoescoliose
Bj 43	<i>B. jararaca</i>	Macho	braquignatia, cifose, hidrocefalia e lordose
Bj 44	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada, cifose e fusão de escamas ventrais
Bj 45	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose, encurtamento de maxila e lordose
Bj 46	<i>B. jararaca</i>	Macho	bicefalia
Bj 47	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada e hidrocefalia.
Bj 48	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	buftalmia, cifose e hidrocefalia
Bj 49	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose e prognatismo
Bj 50	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada, cifoescoliose, cifose e prognatismo
Bj 51	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda enrodilhada, cifose, escoliose, fusão de escamas ventrais e lordose
Bj 52	<i>B. jararaca</i>	Macho	escoliose
Bj 53	<i>B. jararaca</i>	Macho	esquistossomia

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Malformações
Bj 54	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	hidrocefalia e lordose
Bj 55	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	esquistossomia
Bj 56	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	hidrocefalia
Bj 57	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	escoliose e lordose
Bj 58	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	lordose
Bj 59	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	ciclopia e malformação cefálica
Bj 60	<i>B. jararaca</i>	Macho	escoliose
Bj 61	<i>B. jararaca</i>	Macho	hidrocefalia
Bj 62	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	escoliose
Bj 63	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	escoliose
Bj 64	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda incompleta e cifose
Bj 65	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	esquistossomia
Bj 66	<i>B. jararaca</i>	Macho	esquistossomia e fusão de escamas ventrais
Bj 67	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	esquistossomia e fusão de escamas ventrais
Bj 68	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifose e escoliose
Bj 69	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada e escoliose
Bj 70	<i>B. jararaca</i>	Macho	cifo escoliose e malformação cefálica
Bj 71	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cauda enrodilhada, cifo escoliose e malformação cefálica
Bj 72	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cifo escoliose
Bj 73	<i>B. jararaca</i>	Macho	cauda incompleta e cifo escoliose
Bj 74	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	cifo escoliose
Bj 75	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	fusão de escamas ventrais
Cd 01	<i>C. durissus</i>	Fêmea	esquistossomia
Cd 02	<i>C. durissus</i>	Macho	cifo escoliose e malformação cefálica
Cd 03	<i>C. durissus</i>	Macho	cifo escoliose
Cd 04	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cauda enrodilhada
Cd 05	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cauda enrodilhada
Cd 06	<i>C. durissus</i>	Fêmea	anomalia de pigmentação

(Conclusão)

Identificação	Espécie	Sexo	Malformações
Cd 07	<i>C. durissus</i>	Macho	anomalia de pigmentação
Cd 08	<i>C. durissus</i>	Fêmea	esquistossomia
Cd 09	<i>C. durissus</i>	Macho	cifoescoliose
Cd 10	<i>C. durissus</i>	Macho	cifose e nanismo
Cd 11	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifoescoliose
Cd 12	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifoescoliose
Cd 13	<i>C. durissus</i>	Fêmea	buftalmia e escoliose
Cd 14	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifose
Cd 15	<i>C. durissus</i>	Macho	escoliose e fusão de escamas ventrais
Cd 16	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifose e escoliose
Cd 17	<i>C. durissus</i>	Macho	cifose e fusão de escamas ventrais
Cd 18	<i>C. durissus</i>	Fêmea	escoliose
Cd 19	<i>C. durissus</i>	Fêmea	buftalmia e escoliose
Cd 20	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifose e escoliose
Cd 21	<i>C. durissus</i>	Macho	cifoescoliose e escoliose
Cd 22	<i>C. durissus</i>	Macho	lordose
Cd 23	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifose, hidrocefalia e malformação cefálica
Cd 24	<i>C. durissus</i>	Macho	cifose, hidrocefalia e malformação cefálica
Cd 25	<i>C. durissus</i>	Macho	fusão das escamas ventrais
Cd 26	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifose, escoliose e lordose
Cd 27	<i>C. durissus</i>	Fêmea	cifose, escoliose e lordose

APÊNDICE B Dados morfométricos das malformações de coluna, distribuídos por indivíduo

(Continua)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 01c	<i>B. jararaca</i>	Macho	13,50	11,50	1	9,00	78,26	120,14
					2	10,00	86,96	117,20
Bj 02c	<i>B. jararaca</i>	Macho	18,50	15,50	1	2,50	16,13	77,18
					2	7,50	48,39	145,23
					3	9,00	58,06	156,78
					4	14,50	93,55	139,90
Bj 03c	<i>B. jararaca</i>	Macho	26,00	23,00	1	2,50	10,87	135,69
Bj 04c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	24,70	21,00	1	3,70	17,62	104,39
					2	9,10	43,33	106,59
					3	13,60	64,76	85,97
					4	16,10	76,67	119,05
					5	18,50	88,10	114,78
Bj 05c	<i>B. jararaca</i>	Macho	25,20	21,70	1	2,25	10,71	66,71
					2	5,23	24,10	54,25
					3	6,17	28,43	102,84
					4	12,88	59,33	95,48
					5	13,71	63,18	69,44
					6	18,27	84,19	77,81
Bj 06c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	26,99	22,99	1	18,25	84,11	33,76
Bj 07c	<i>B. jararaca</i>	Macho	29,63	26,13	1	2,39	10,41	99,95
					2	7,32	28,01	114,11
					3	17,02	65,15	103,19
Bj 08c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	17,47	12,97	1	2,48	9,48	18,28
					2	3,99	30,77	93,81
					3	4,98	38,38	86,12

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 08c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	17,47	12,97	4	9,31	71,81	110,88
					5	11,21	86,42	139,81
					6	12,68	97,82	158,86
Bj 09c	<i>B. jararaca</i>	Macho	27,50	23,00	1	3,37	31,22	28,69
Bj 10c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	24,00	20,50	1	6,25	27,16	106,91
					2	9,66	47,12	96,34
					3	11,71	57,14	73,39
					4	13,33	65,03	86,57
					5	15,20	74,13	49,40
					6	20,41	99,54	84,56
Bj 11c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	19,64	14,64	1	2,54	12,37	22,27
					2	5,09	34,73	25,27
					3	5,73	39,15	17,97
					4	7,38	50,41	50,33
					5	8,91	60,86	72,40
					6	11,28	77,05	138,04
					7	12,28	83,85	133,40
Bj 12c	<i>B. jararaca</i>	Macho	23,91	19,53	1	1,18	8,07	55,49
					2	5,64	28,87	90,00
					3	6,17	31,61	73,93
					4	10,08	51,63	149,74
					5	13,59	69,58	130,34
					6	19,27	98,66	132,93
Bj 13c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,00	24,00	1	2,95	12,28	127,24
					2	3,93	16,38	142,60
					3	5,98	24,91	38,61

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 13	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,00	24,00	4	8,82	36,74	106,15
					5	15,91	66,30	109,36
					6	18,44	76,84	116,30
Bj 14c	<i>B. jararaca</i>	Macho	26,79	23,09	1	4,94	21,38	142,39
					2	7,77	33,66	121,20
					3	13,14	56,91	153,30
					4	22,70	98,29	86,10
Bj 15c	<i>B. jararaca</i>	Macho	20,20	17,70	1	7,24	40,91	139,35
					2	8,59	48,56	152,75
					3	16,16	91,31	133,11
Bj 16c	<i>B. jararaca</i>	Macho	27,18	23,40	1	6,43	27,46	143,67
Bj 17c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	14,97	12,97	1	4,52	34,84	100,93
					2	10,08	77,69	109,23
Bj 18c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,92	23,33	1	3,83	16,40	146,53
					2	10,21	43,77	123,15
Bj 19c	<i>B. jararaca</i>	Macho	27,08	23,08	1	1,75	7,57	122,47
					2	2,80	12,13	122,91
					3	5,43	23,53	147,64
					4	10,65	46,15	124,78
					5	16,66	72,21	123,96
					6	23,00	99,67	136,52
Bj 20c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	26,58	24,00	1	3,40	14,15	95,21
Bj 21c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	28,13	24,13	1	4,31	17,85	41,57
Bj 22c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	27,50	23,00	1	2,00	8,70	55,49
					2	9,50	41,30	147,64

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 22c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	27,50	23,00	3	15,00	65,22	124,78
					4	18,00	78,26	123,96
Bj 23c	<i>B. jararaca</i>	Macho	27,50	23,00	5	23,00	100,00	136,52
Bj 24c	<i>B. jararaca</i>	Macho	33,84	29,34	1	10,63	36,23	152,70
					2	21,35	72,76	154,79
Bj 25c	<i>B. jararaca</i>	Macho	26,70	22,65	1	2,01	8,89	122,57
					2	13,77	60,79	86,14
					3	18,95	83,69	125,87
					4	22,65	100,00	92,16
Bj 26c	<i>B. jararaca</i>	Macho	14,31	10,81	1	2,32	21,45	69,08
					2	2,99	27,68	123,69
					3	3,38	31,25	116,57
					4	4,07	37,61	120,07
					5	5,06	46,83	133,97
					6	6,41	59,30	60,77
					7	8,34	77,13	129,40
					8	9,28	85,83	102,58
					9	9,59	88,71	104,04
					10	10,39	96,14	66,04
Bj 27c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	19,56	17,06	1	2,97	17,41	76,87
					2	5,28	30,94	146,31
					3	7,59	44,48	136,33
					4	8,17	47,88	149,57
					5	9,77	57,25	22,38
					6	15,35	89,94	42,27
					7	16,75	98,16	108,14

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 27c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	19,56	17,06	8	16,64	97,51	49,40
					9	17,00	99,64	40,60
Bj 28c	<i>B. jararaca</i>	Macho	21,41	19,81	1	1,80	9,09	34,95
Bj 29c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,05	21,95	1	21,68	98,78	134,72
Bj 30c	<i>B. jararaca</i>	Macho	25,43	21,73	1	2,84	13,06	114,36
					2	20,48	94,27	135,00
Bj 31c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,31	20,81	1	4,66	22,41	63,44
					2	15,21	73,09	60,40
Bj 32c	<i>B. jararaca</i>	Macho	27,89	23,89	1	3,03	12,67	150,66
Bj 33c	<i>B. jararaca</i>	Macho	25,43	21,13	1	3,27	15,47	26,67
					2	8,89	42,07	47,98
					3	10,26	48,57	136,25
					4	11,78	55,75	62,26
					5	13,00	61,54	32,55
					6	13,95	66,02	49,09
					7	15,60	73,84	50,03
					8	16,95	80,24	38,81
					9	20,52	97,11	80,08
					10	20,80	98,46	108,44
					11	20,90	98,93	55,97
Bj 34c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	15,57	13,43	1	3,37	25,12	60,03
					2	4,56	33,94	67,66
					3	6,27	46,66	63,96
					4	9,69	72,16	84,29
					5	11,42	85,02	63,25
					6	11,98	89,19	56,31

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 34c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	15,57	13,43	7	12,63	94,05	35,84
Bj 35c	<i>B. jararaca</i>	Macho	19,66	16,66	1	1,72	10,30	103,10
					2	3,02	18,12	95,79
					3	7,35	44,14	85,89
					4	11,75	70,51	59,79
					5	2,39	14,34	55,06
Bj 36c	<i>B. jararaca</i>	Macho	26,50	24,20	1	5,00	20,66	106,70
					2	11,70	48,35	120,30
Bj 37c	<i>B. jararaca</i>	Macho	25,89	21,98	1	3,37	15,34	52,35
Bj 38c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	29,32	25,52	1	9,33	36,56	108,44
					2	13,35	52,30	131,16
					3	19,47	76,29	132,00
					4	24,27	95,10	63,31
Bj 39c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	26,52	23,40	1	3,49	14,92	37,65
					2	6,86	29,31	76,09
					3	9,51	40,66	28,30
					4	11,02	47,10	120,29
					5	12,62	53,92	64,65
					6	14,78	63,16	44,82
					7	17,40	74,36	46,79
					8	20,17	86,21	95,88
					9	22,08	94,35	77,01
					10	23,40	100,00	96,55
Bj 40c	<i>B. jararaca</i>	Macho	27,70	24,00	1	3,05	12,69	80,05
Bj 41c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	29,04	25,84	1	20,73	80,24	103,89
Bj 42c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	15,97	13,97	1	2,82	20,19	60,90

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Bj 42c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	15,97	13,97	2	4,31	30,88	104,29
					3	6,74	48,22	19,51
					4	9,63	68,91	76,26
					5	11,31	81,00	139,76
Bj 43c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,67	22,37	1	7,70	34,43	82,69
Bj 44c	<i>B. jararaca</i>	Macho	25,74	22,03	1	7,78	35,32	135,69
					2	14,71	66,76	23,20
					3	16,08	72,97	97,70
					4	20,19	91,63	102,06
Bj 45c	<i>B. jararaca</i>	Macho	24,50	20,80	1	5,96	28,65	56,49
Bj 46c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	21,80	18,77	1	7,29	38,82	144,52
					2	15,64	83,33	161,98
Bj 47c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	18,15	15,44	1	2,10	13,59	61,35
					2	6,61	42,83	70,84
Bj 48c	<i>B. jararaca</i>	Macho	29,14	26,15	1	2,13	8,13	110,02
					2	24,96	95,42	108,03
Bj 49c	<i>B. jararaca</i>	Fêmea	25,27	23,06	1	3,94	17,09	116,01
					2	9,25	40,10	154,13
					3	13,68	59,33	122,76
					4	22,20	96,25	76,02
Bj 50c	<i>B. jararaca</i>	Macho	21,30	17,80	1	11,58	65,05	89,31
Cd 01c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	11,81	10,81	1	4,82	37,18	112,10
					2	9,08	84,02	151,79
Cd 02c	<i>C. durissus</i>	Macho	31,02	27,75	1	25,74	92,77	113,63
Cd 03c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	11,17	10,28	1	6,75	65,67	88,84

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Cd 03c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	11,17	10,28	2	9,29	90,32	92,20
Cd 04c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	35,34	32,14	1	3,07	9,56	97,65
					2	11,69	36,39	57,97
					3	18,74	58,33	79,38
					4	20,07	62,44	57,86
					5	22,35	69,55	98,37
					6	23,61	73,47	115,82
					7	27,40	85,27	112,68
					8	29,34	91,31	122,80
Cd 05c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	32,94	29,94	1	23,03	76,93	63,16
					2	24,89	83,13	104,55
					3	27,22	90,92	53,57
Cd 06c	<i>C. durissus</i>	Macho	30,26	29,00	1	28,72	99,03	77,87
Cd 07c	<i>C. durissus</i>	Macho	23,26	20,26	1	3,24	16,01	89,16
					2	5,55	27,38	135,21
					3	11,10	54,78	111,16
					4	12,05	59,51	83,63
					5	14,16	69,88	99,46
					6	16,14	79,68	107,79
					7	19,82	97,87	114,69
Cd 08c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	29,67	27,08	1	2,65	9,80	76,87
					2	23,77	87,75	136,22
Cd 09c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	30,11	27,80	1	4,30	15,48	119,16
					2	5,72	20,58	114,34
					3	9,58	34,47	131,18
					4	14,44	51,96	127,77

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Cd 09c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	30,11	27,80	5	19,17	68,94	122,04
					6	20,77	74,70	134,71
					7	25,45	91,54	90,71
					8	26,58	95,61	135,00
Cd 10c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	28,57	26,57	1	4,97	18,70	4,97
					2	5,95	22,38	0,98
					3	8,09	30,44	2,14
					4	16,72	62,94	8,64
					5	18,98	71,42	2,26
					6	21,22	79,88	2,25
					7	22,67	80,98	1,45
					8	25,81	92,18	3,14
Cd 11c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	29,34	28,00	1	3,01	10,74	69,83
					2	5,10	18,22	72,25
					3	6,23	22,23	117,88
					4	21,15	75,52	101,31
					5	23,38	83,49	112,50
					6	27,78	99,21	102,68
Cd 12c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	13,24	11,84	1	1,52	12,87	83,99
					2	5,42	45,75	119,07
					3	9,61	81,19	95,99
					4	11,17	94,37	113,39
Cd 13c	<i>C. durissus</i>	Macho	35,46	32,46	1	27,82	85,72	125,91
					2	30,87	95,10	127,79
					3	32,31	99,55	129,39
Cd 14c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	31,92	29,52	1	3,90	13,21	135,05

(Continuação)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Cd 14c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	31,92	29,52	2	5,33	18,04	141,74
					3	17,31	58,63	89,15
					4	27,09	91,77	124,53
Cd 15c	<i>C. durissus</i>	Macho	27,68	24,68	1	2,82	11,44	95,06
					2	3,91	15,82	104,47
					3	4,82	19,51	85,02
					4	12,72	51,55	88,76
					5	17,14	69,43	94,74
					6	20,15	81,64	117,95
					7	22,14	89,72	116,16
					8	23,54	95,38	100,01
Cd 16c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	36,24	33,24	1	20,38	61,33	104,91
Cd 17c	<i>C. durissus</i>	Macho	42,11	39,11	1	9,41	24,05	134,53
					2	11,83	30,25	100,67
					3	32,76	83,75	75,38
Cd 18c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	39,82	36,12	1	5,73	15,87	72,90
					2	19,45	53,83	113,22
					3	33,97	94,03	118,60
Cd 19c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	34,04	31,54	1	2,64	8,36	93,42
					2	30,70	97,34	145,94
Cd 20c	<i>C. durissus</i>	Macho	26,46	23,96	1	7,78	32,46	160,50
					2	9,19	38,37	155,66
					3	12,94	53,99	156,04
					4	17,79	74,26	148,99
					5	21,33	89,04	152,09
Cd 21c	<i>C. durissus</i>	Macho	32,16	28,86	1	2,72	9,42	135,42

(Conclusão)

Identificação	Espécie	Sexo	Comprimento total (cm)	Comprimento narina-cloaca (cm)	Número de lesões	Localização da lesão (cm)	Localização da lesão (%)	Angulação
Cd 21c	<i>C. durissus</i>	Macho	32,16	28,86	2	19,78	68,56	93,81
					3	25,17	87,21	135,74
Cd 22c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	30,46	27,96	1	14,75	52,76	142,53
					2	15,68	56,07	142,33
					3	18,42	65,90	129,07
					4	19,88	71,09	149,62
					5	21,64	77,40	130,03
					6	23,51	84,09	139,25
Cd 23c	<i>C. durissus</i>	Macho	25,02	23,02	1	19,45	84,50	135,09
Cd 24c	<i>C. durissus</i>	Macho	33,26	29,76	1	28,83	96,85	131,72
Cd 25c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	30,34	28,14	1	16,35	58,10	147,68
					2	17,74	63,03	140,71
					3	19,41	68,98	158,53
Cd 26c	<i>C. durissus</i>	Fêmea	37,89	34,19	1	4,38	12,80	114,78
					2	15,95	46,65	118,96
					3	22,99	67,24	116,76
					4	29,12	85,15	155,98