

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**AS VARIAÇÕES SAZONAIS PODEM INFLUENCIAR NOS
NÍVEIS DE ACÚMULO GORDUROSO HEPÁTICO EM
TESTUDINES?**

LUNA SCARPARI ROLIM

Botucatu, SP
Agosto de 2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**AS VARIAÇÕES SAZONAIS PODEM INFLUENCIAR NOS NÍVEIS
DE ACÚMULO GORDUROSO HEPÁTICO EM TESTUDINES?**

LUNA SCARPARI ROLIM

Tese apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Animais Selvagens para
obtenção do título de Doutora.

Orientadora: Profa. Titular Maria Jaqueline
Mamprim

Botucatu, SP
Agosto de 2025

R748v Rolim, Luna Scarpari
As variações sazonais podem influenciar nos níveis de acúmulo gorduroso hepático em testudines? / Luna Scarpari
Rolim. -- Botucatu, 2025
100 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientadora: Maria Jaqueline Mamprim

1. Animais silvestres. 2. Medicina veterinária. 3. Tomografia.
4. Diagnóstico por imagem. 5. Lipidose. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

BIOGRAFIA DO AUTOR

Apresentação:

Luna Scarpari Rolim (ela; dela), brasileira, 33 anos.

Trajetória Acadêmica:

Graduação em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – UNESP, Campus Botucatu, SP em 2016. Realizou Aprimoramento Profissional (2017-2018) na área de Medicina de Animais Selvagens pela FMVZ – UNESP, Campus Botucatu e Zoológico Municipal Quinzinho de Barros – Sorocaba, SP, e posteriormente residência (2018-2020), pelo Programa de Residência em Saúde Animal integrada à saúde pública, área de Medicina de Animais Selvagens, na FMVZ – UNESP, Campus Botucatu, SP.

Experiência Profissional:

Durante os anos seguintes à conclusão da residência, atuou no atendimento clínico e cirúrgico especializado para animais exóticos e silvestres em diversas clínicas veterinárias particulares.

Foi docente do curso de Medicina Veterinária na Faculdade Santa Bárbara (FAESB), em Tatuí, e na Faculdade Sudoeste Paulista (UniFSP), em Avaré, SP.

Principais atividades durante o período de Pós-Graduação:

Ministrou diversas palestras em semanas acadêmicas, grupos de estudo, encontros e simpósios. Participou de eventos acadêmicos importantes, realizando apresentação de trabalhos, posteriormente premiados. Contribuiu em pesquisas e participou da publicação de artigos relevantes para medicina de animais selvagens. Realizou cursos e treinamentos em endoscopia e videocirurgia veterinária no Brasil e nos Estados Unidos, com foco em videoscopia de animais silvestres e exóticos. Por fim, foi bolsista do programa de doutorado sanduíche (PDSE - CAPES) realizando intercâmbio científico na Universidade da Califórnia, Davis – EUA, junto ao laboratório de Lipidômica em Aves e Répteis (“CLIPER”), coordenado pelo prof. Hugues Beaufre.

Nome do autor: **Luna Scarpari Rolim**

Título: AS VARIAÇÕES SAZONAIS PODEM INFLUENCIAR NOS NÍVEIS DE ACÚMULO GORDUROSO HEPÁTICO EM TESTUDINES?

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Titular Dr^a. Maria Jaqueline Mamprim

Presidente e Orientadora

Departamento de Cirurgia veterinária e Reprodução Animal
FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof.^a Dr^a. Luciane dos Santos Mesquita

Departamento de Cirurgia veterinária e Reprodução Animal
FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof^a. Titular Dr^a. Sheila Canevese Rahal

Departamento de Cirurgia veterinária e Reprodução Animal
FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Dr. Gustavo Henrique Pereira Dutra

Aquário Municipal de Santos

Secretaria do Meio Ambiente e Sustentabilidade
PREFEITURA MUNICIPAL DE SANTOS, SP

Dr. Pedro Enrique Navas Suárez

Departamento de Patologia

FMVZ – USP – SÃO PAULO

Data da defesa: 18 de agosto de 2025.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares que sempre me apoiaram e me incentivaram a estudar. Principalmente meu pai que até hoje me pergunta “O que você não pode esquecer?” e eu respondo “que eu te amo e é pra estudar bastante”. E a minha querida mãe que deve seguir orgulhosa lá das estrelas ao me ver conquistando os nossos sonhos.

À minha família Raphael, Noah, Lia e Dete por aguentarem as pontas sempre que precisei de ajuda.

A todos os meus amigos que sempre estiveram por perto, mesmo muitas vezes estando bem longe. Especial agradecimento aos amigos Vivian, Roberta, Jeana, Isabella Moraes, Guilherme Rech e Fernanda Moura, os quais abraçaram a minha causa e tornaram possível a finalização desse projeto.

À minha orientadora Prof.^a Jaqueline Mamprim, assim como a todos os amigos do serviço de diagnóstico por imagem da FMVZ – UNESP Botucatu, Heraldo, Maurício, João, Marcos e Residentes.

Aos professores Regina Takahira e Paulo Marcusso, residentes e servidores do Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ – UNESP Botucatu.

À professora Noeme Sousa Rocha, e novamente à amiga Fernanda Moura e servidores do Serviço de Patologia veterinária.

Ao professor Dr. Beaufre, Dr. Keller, Marcel Ponce, residentes e técnicos da UC-Davis que me receberam com tanto carinho durante o doutorado sanduíche. Assim como o professor Dr. Divers e a Dra. Nicole Salaberry da UGA.

À Patricia Branconaro e toda a equipe Zoetis pela confiança e apoio.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp - Botucatu/SP, pelo apoio para o desenvolvimento desta tese, em especial a todas as pessoas e animais do Centro de Medicina e Manejo de Animais Selvagens (CEMPAS).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), código de Financiamento 001, Processo 88887.830094/2023-00, a qual concedeu também bolsa para realização de Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior - PDSE (Processo 88881.982258/2024-01) junto à Universidade da Califórnia – Davis, CA, EUA.

À FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos), convênio número 01.12.0530.00.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Escala para avaliação histopatológica das amostras hepáticas.....	21
TABELA 2. Valores Hematológicos de cágados do gênero <i>Trachemys</i> fêmeas e machos adultos, avaliados em duas estações no mesmo ano.....	28
TABELA 3. Valores Bioquímicos de Cágados (<i>Trachemys</i> sp) machos e fêmeas adultos em dois períodos do mesmo ano, após jejum de 48h.....	29
TABELA 4. Matriz de Correlações das variáveis analisadas na bioquímica sérica de cágados <i>Trachemys</i> sp.....	30
TABELA 5. Prevalência das variáveis qualitativas observadas na avaliação macroscópica do fígado de <i>Trachemys</i> sp. durante celioscopia (n=15)	36
TABELA 6. Matriz de Correlações entre Bioquímica Sérica e Tomografia Computadorizada dos cágados.....	42
TABELA 7. Matriz de Correlação Histopatológico Hepático e Bioquímica sérica dos cágados.....	43
TABELA 8. Matriz de correlação Histopatológico e Tomografia Hepática.....	44
TABELA 9. Valores Hematológicos de Jabutis-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) machos e fêmeas adultos, avaliados em duas estações do ano após jejum de 48h.....	47
TABELA 10. Valores Bioquímicos de Jabutis-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) machos e fêmeas adultos em dois períodos do ano, após jejum de 48h.....	49
TABELA 11. Correlação de <i>Spearman</i> para variáveis bioquímicas de Jabutis-piranga.....	50
TABELA 12. Estatística descritiva das variáveis avaliadas na tomografia computadorizada de Jabutis-piranga, em dois períodos de observação.....	50

TABELA 13. Matriz de Correlação entre as variáveis avaliadas na tomografia computadorizada.....	55
TABELA 14. Comparação das características hepáticas e celomáticas observados durante celioscopia de Jabutis-piranga em diferentes estações.....	57
TABELA 15. Dados da morfometria e massa corpórea dos cágados.....	99
TABELA 16. Análise descritiva dos dados sobre morfometria e massa corpórea dos jabutis-pirabnga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	99
TABELA 17. Valores de hemograma e leucograma determinados por estudos com cágados do gênero <i>Trachemys</i> sp.....	100

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Cronologia das atividades e coleta de dados.....	16
FIGURA 2: Obtenção das imagens de tomografia computadorizada e metodologias de avaliação.....	19
FIGURA 3: Levantamento das variações climáticas do Município de Botucatu segundo dados da Estação Meteorológica da FCA-UNESP.....	24
FIGURA 4: Gráfico da variação de peso (kg) dos cágados (<i>Trachemys</i> sp) durante os dois períodos de avaliação.....	25
FIGURA 5: Variações bioquímicas séricas entre os períodos de verão (estação chuvosa) e inverno (estação seca) nas fêmeas (A-B) e machos (C-D) de cágados (<i>Trachemys</i> sp)	30
FIGURA 6: Influência da sazonalidade e do sexo no HU Hepático de <i>Trachemys</i> sp..	32
FIGURA 7: Influência da sazonalidade e do sexo na Razão entre Área Hepática e Área total de Carapaça de <i>Trachemys</i> sp.....	32
FIGURA 8: Avaliação da deposição gordurosa subcarapacial em <i>Trachemys</i> sp.....	33
FIGURA 9: Avaliação macroscópica do parênquima hepático de cágados (<i>Trachemys</i> sp) por celioscopia.....	35
FIGURA 10: Análise por escore de lesões histopatológicas do tecido hepático de cágados <i>Trachemys</i> sp em diferentes estações.....	37
FIGURA 11: Avaliação histológica hepática dos cágados.....	39
FIGURA 12: Gráfico de variação da massa corpórea de Jabutis-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) durante período de estudo.....	46

FIGURA 13: Influência do sexo nas médias dos valores da bioquímica sérica de Jabutis-piranga.....	49
FIGURA 14: Comparação das Médias de HU nos lobos hepáticos direito e esquerdo de machos e fêmeas de Jabuti-piranga.....	51
FIGURA 15: Influência do sexo e da sazonalidade na atenuação hepática de Jabutis-Piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) avaliados por tomografia computadorizada em dois períodos.....	52
FIGURA 16: Influência do sexo e da sazonalidade na avaliação tomográfica da razão entre a área hepática/área carapaça de Jabutis-Piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) no plano axial (transverso).....	53
FIGURA 17: Avaliação da gordura subcarapacial em Jabutis-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	54
FIGURA 18: Variação do acúmulo gorduroso subcarapacial no inverno e verão para ambos os sexos em Jabutis-Piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	55
FIGURA 19: Gráfico de combinação entre HU Hepático e % Gordura subcarapacial..	56
FIGURA 20: Avaliação macroscópica do parênquima hepático de Jabuti-piranga (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) submetidos a celioscopia.....	56
FIGURA 21: Análise por escore de lesões histopatológicas do tecido hepático de Jabutis-piranga em diferentes estações.....	59
FIGURA 22: Fotomicrografias da Análise Histológica do tecido hepático dos Jabutis-piranga em diferentes técnicas histoquímicas.....	62
FIGURA 23: Análise comparativa dos exames de TC e histopatológico hepático dos jabutis-piranga positivos para lipidose hepática e negativos	66

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	XI
ABSTRACT	XII
IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA	XIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Características biológicas dos cágados	3
2.2 Características biológicas dos Jabutis	4
2.3 Aspectos reprodutivos dos Testudines	5
2.4 Variações do acúmulo gorduroso em répteis	7
2.5 Lipidose Hepática	9
2.6 Diagnóstico de Afecções Hepáticas	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Critérios para inclusão de animais na pesquisa	16
3.2 Origem dos animais e manutenção	16
3.3 Avaliação hematológica e bioquímica sérica	17
3.4 Exame de imagem avançada	18
3.5 Celioscopia para coleta de biópsia hepática	20
3.6 Histopatológico do tecido hepático	21
3.7 Análise estatística	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23

4.1 DADOS METEREOLÓGICOS	23
4.2 CÁGADOS (<i>Trachemys</i> sp)	25
4.2.1 Morfometria e massa corporea	25
4.2.2 Hemograma e bioquímico	26
4.2.3 Tomografia computadorizada	31
4.2.4 Celioscopia	34
4.2.5 Histopatológico da biópsia hepática	36
4.3 JABUTIS-PIRANGA (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	45
4.3.1 Morfometria e massa corporea	45
4.3.2 Hemograma e bioquímico	46
4.3.3 Tomografia computadorizada	50
4.3.4 Celioscopia	56
4.3.5 Histopatológico da biópsia hepática	58
5. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ARTIGO 1	81
ARTIGO 2	89
ANEXOS	98

ROLIM, L. S. As variações sazonais podem influenciar os níveis de acúmulo gorduroso em testudines? Botucatu, 2025. 100p. Tese (Doutorado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

Alterações hepáticas são comuns em répteis, e a lipidose é o distúrbio mais prevalente. O diagnóstico dessa condição pode ser auxiliado por exames bioquímicos e de imagem, mas a confirmação requer avaliação histopatológica. Este estudo teve como objetivo comparar os métodos de avaliação da lipidose hepática em duas espécies de quelônios, e investigar o impacto da sazonalidade e da variável sexo. Foram avaliados 24 cágados (*Trachemys* sp.) e 26 jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*), machos e fêmeas adultos, em dois períodos distintos (reprodutivo e não reprodutivo). Exames hematológicos, bioquímica sérica, tomografia computadorizada e biópsia hepática foram efetuados em todos os animais. Os valores de Unidades Hounsfield (HU) hepáticos assim como a avaliação histológica não foram influenciados pela sazonalidade nos cágados, porém inferiram menores valores de atenuação hepática e maior acúmulo gorduroso intra-hepático para jabutis no verão. A sazonalidade e o sexo impactaram na bioquímica sérica para ambas as espécies de testudines. O sexo também influenciou significativamente a massa corpórea, a gordura subcarapacial e os valores de HU hepático. Os depósitos de glicogênio foram maiores nos jabutis no verão para ambos os sexos. Tanto o acúmulo lipídico quanto o acúmulo de glicogênio podem estar associados à redução do HU hepático na tomografia e maiores lesões degenerativas dos hepatócitos no exame histopatológico. As correlações entre as metodologias diagnósticas reforçam que o acúmulo de gordura subcarapacial e as reservas energéticas intra-hepáticas estão associados a alterações metabólicas, especialmente em fêmeas durante o período reprodutivo. A TC se mostrou útil na triagem de lipidose hepática, mas a confirmação diagnóstica requer avaliação integrada com exames laboratoriais e histopatologia especializada.

Palavras-chave: Diagnóstico; Lipidose hepática; Metabolismo energético; Quelônios.

ROLIM, L. S. Can seasonal variations influence fat accumulation levels in testudines?

Botucatu, 2025. 100p. Thesis (Doutorado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Liver alterations are common in reptiles, and lipidosis is the most prevalent disorder. Biochemical and imaging tests can aid diagnosis of this condition, but confirmation requires histopathological evaluation. This study aimed to compare the methods for assessing hepatic lipidosis in two species of turtles and to investigate the impact of seasonality and sex. Twenty-four adult male and female turtles (*Trachemys* sp.) and 26 red-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*) were evaluated during two distinct periods (reproductive and non-reproductive). Hematological examinations, serum biochemistry, computed tomography, and liver biopsy were performed on all animals. Hepatic Hounsfield Unit (HU) values, as well as histological evaluation, were not influenced by seasonality in turtles. Still, they did indicate lower hepatic attenuation values and greater intrahepatic fat accumulation in tortoises during the summer. Seasonality and sex impacted serum biochemistry for both testudine species. Sex also significantly influenced body mass, subcarapacial fat, and hepatic HU values. Glycogen stores were higher in tortoises in the summer for both sexes. Both lipid accumulation and glycogen accumulation may be associated with reduced hepatic HU on CT scans and greater degenerative hepatocyte lesions on histopathological examination. Correlations between diagnostic methodologies reinforce that subcarapacial fat accumulation and intrahepatic energy reserves are associated with metabolic alterations, especially in females during the reproductive period. CT has proven useful in screening for hepatic lipidosis, but diagnostic confirmation requires integrated evaluation with laboratory tests and specialized histopathology.

Keywords: Diagnosis; Hepatic lipidosis; Energy metabolism; Chelonians.

IMPACTO POTENCIAL DA PESQUISA

Impacto científico:

O estudo aprofunda o entendimento sobre as alterações hepáticas e o metabolismo energético dos testudines, explorando o impacto da reprodução nessas variáveis.

Ao comparar tomografia computadorizada, bioquímica sérica e histopatologia, o estudo contribui para validar protocolos diagnósticos e discutir sua aplicação na medicina de quelônios.

Além disso, o modelo pode ser extrapolado para estudos em outras espécies silvestres e auxiliar no desenvolvimento de modelos comparativos com répteis e outros vertebrados.

Impacto social:

Ao explorar as metodologias diagnósticas em testudines, o estudo contribui para a melhoria da saúde e o bem-estar dessas espécies, especialmente os animais mantidos sob cuidados humanos.

A melhora no diagnóstico e no cuidado com a saúde desses animais contribui para a conservação das espécies.

Ainda, os dados relacionados à medicina de répteis servem de subsídios para a formação de veterinários, biólogos e profissionais da saúde animal com foco em animais não convencionais.

Impacto econômico:

Ao validar métodos de triagem como a tomografia computadorizada, pode-se otimizar recursos em clínicas, zoológicos e centros de reabilitação animal, reduzindo a dependência de métodos mais invasivos e mais custosos.

1. INTRODUÇÃO

O atendimento veterinário de animais silvestres e exóticos é crescente. Dentre os grupos de animais comumente atendidos na clínica de répteis estão os testudines, com destaque para os jabutis e os cágados (JEPSON, 2010). O atendimento destes animais se torna desafiador porque são espécies que possuem o corpo protegido por uma carapaça e recoberto por escudos dérmicos, os quais dificultam o exame clínico e limitam a realização de exames diagnósticos (BOYER e BOYER, 1996).

Além disso, os répteis são animais ectodérmicos e muitas de suas funções metabólicas ficam comprometidas pela influência do meio ambiente (HUEY e STEVENSON, 1979). Aliados ao efeito dessa interação, erros de manejo como baixa temperatura, dieta inadequada, umidade inapropriada ou falta de luz ultravioleta (UV) culminam em diversas doenças (DIVERS, 1999; MANS, 2013). Da mesma forma, alterações ambientais naturais, como as mudanças climáticas das estações do ano, podem afetar a fisiologia desses animais. A exemplo disso, o efeito da sazonalidade sobre os parâmetros fisiológicos nos répteis foi comprovado em diferentes espécies (SEEBACHER e FRANKLIN, 2011; HERNANDEZ *et al.*, 2017).

Cuidados com temperatura, umidade, exposição à luz UV e alimentação adequada estão entre os principais fatores determinantes para assegurar a saúde dos testudines sob cuidados humanos (BOYER e BOYER, 2019). Todavia, os erros de manejo são frequentes e os animais acabam precisando de cuidados veterinários (DIVERS, 1999). Dentre as afecções que acometem os répteis, as doenças hepáticas ganham destaque importante, pois o correto funcionamento do fígado é vital para a manutenção da homeostasia, já que qualquer perda da função hepática pode comprometer todos os demais sistemas (DIVERS e COOPER, 2000; MCARTHUR *et al.*, 2004; KING *et al.*, 2019).

A alteração hepática mais frequente em répteis é a lipidose hepática, a qual é relatada em diversas espécies (SIMPSON, 2006; NARDINI *et al.*, 2014; BARBOZA *et al.*, 2023). Mamíferos e aves realizam a deposição da reserva gordurosa primeiramente no tecido subcutâneo, auxiliando na proteção térmica, enquanto a maioria dos répteis faz o depósito gorduroso na região caudo-ventral da cavidade celomática, a qual serve como reserva para o período de hibernação ou um estoque para a vitelogênese nas

fêmeas (DIVERS e COOPER, 2000). Já os quelônios podem depositar a reserva lipídica de maneira intra-hepática, possivelmente por causa da carapaça que inviabiliza a expansão do celoma (KWAN, 1994; DIVERS e COOPER, 2000). Essa característica dificulta a diferenciação entre os acúmulos lipídicos intra-hepáticas patológicos (lipidose hepática) e fisiológicos (DIVERS e COOPER, 2000; DUTRA et al., 2014; PRICE, 2016).

A ocorrência de lipidose hepática está associada à nutrição inadequada, como excesso de gordura na dieta ou frequência elevada de alimentação e a falta de exercícios, tendo sido relatada em diferentes espécies de répteis (SIMPSON, 2006; BARBOZA *et al.*, 2023). Seu diagnóstico pode ser realizado por meio de testes hematológicos bioquímicos e exames de imagem avançada, porém o diagnóstico conclusivo depende da avaliação histopatológica (DIVERS, 2010).

Após levantamento bibliográfico sobre lipidose em testudines foi encontrada literatura descritiva sobre técnicas para coleta de amostras de tecido hepático (DIVERS, 2010), parâmetros de referências para avaliação da bioquímica sérica (DUTRA, 2014; GRADELA *et al.*, 2020) ou perfil hematológico em diferentes sazonalidades (STEIN *et al.*, 2015; BERGAMIINI *et al.*, 2017; HERNANDEZ *et al.*, 2020), assim como diagnóstico de lipidose por meio de tomografia computadorizada (TC) (MARCHIORI *et al.*, 2015; KING *et al.*, 2019). Porém, faltam estudos que correlacionem as alterações encontradas em cada uma dessas técnicas, comparando os achados de bioquímica sérica com o histopatológico e o exame de imagem. Da mesma forma, são escassas pesquisas que avaliem a interferência da sazonalidade e do sexo nestes dados, bem como estudos que analisem a interferência da reprodução na reserva energética intra-hepática.

Portanto, o presente estudo teve por objetivos pesquisar a influência da estação reprodutiva e não reprodutiva nos valores do acúmulo gorduroso hepático em duas espécies de testudines tropicais, a sensibilidade da TC para identificação desta variação, a quantificação e como utilizar este exame de imagem como uma ferramenta diagnóstica eficiente. Adicionalmente, procurou-se destacar as correlações entre os resultados da tomografia, os exames de bioquímica sérica e histopatológicos hepáticos. A hipótese foi que tanto a sazonalidade quanto o sexo poderiam influenciar o acúmulo gorduroso hepático de testudines, em que as fêmeas iriam apresentar maior depósito de gordura hepática e os machos menor acúmulo gorduroso durante a estação reprodutiva. Ao correlacionar os dados, é esperado encontrar valores de HU

inversamente proporcionais a AST e triglicérides. Fêmeas com menores valores de HU quando foliculogênese aparente. Menores valores de HU quando a esteatose hepática está presente. Maior prevalência de lipidose hepática nas fêmeas.

A presente tese contribui diretamente para alcançar as metas globais para o desenvolvimento sustentável estabelecidas pela Organização das Nações Unidas (ONU), estando relacionado à dois Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS): ODS 15 (Vida Terrestre), ao promover o conhecimento científico sobre a saúde de espécies silvestres e os impactos ambientais que influenciam seus processos fisiológicos; E a ODS 3 (Saúde e Bem-estar), por meio da geração de dados sobre indicadores de saúde em testudines, a pesquisa contribui para promoção da saúde e bem estar dos animais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características biológicas dos cágados

Os tigres d'água de orelha-vermelha (*Trachemys scripta*) e tigres d'água de orelha-amarela (*Trachemys dorbigni*) são cágados da família Emididae, os quais ocorrem da América do Sul até a América do Norte (FIGUEIREDO, 2014). Apesar de *Trachemys dorbigni* ser uma espécie brasileira e *Trachemys scripta* ser uma espécie exótica, é frequente a ocorrência de animais híbridos (FIGUEIREDO, 2014; VOGT, FERRARA e BERNARDES, 2017). A identificação destas espécies é feita pela avaliação dos desenhos visualizados nos escudos do plastrão (ERNST *et al.*, 1994).

Estas espécies de cágados passam a maior parte do tempo na água, para isso possuem membranas interdigitais que auxiliam no nado para captura de pequenos peixes e crustáceos (BUJES *et al.*, 2007). A dieta é onívora, porém estudos demonstram uma tendência carnívora nos animais jovens e herbívora nos adultos (PRITCHARD e TREBBAU, 1984; ERNST *et al.*, 1994).

Enquanto o *Trachemys scripta elegans* se tornou invasora em grande parte do mundo, a *Trachemys dorbigni* é considerada 'vulnerável' (VU) no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção, publicado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2018. Essa classificação reflete as pressões

antrópicas, como a destruição de habitats aquáticos e a poluição, as quais afetam diretamente a sobrevivência da espécie (BUJES *et al.*, 2007; FIGUEIREDO, 2014).

A identificação morfológica sexual dos tigres d'água depende da experiência do examinador e se dá pela avaliação da cauda e das garras do animal (BUJES *et al.*, 2007). Machos possuem maior comprimento de cauda, assim como a cloaca localizada mais distal da carapaça, além de garras mais compridas nos membros torácicos (GRADELA *et al.*, 2017). Durante o período reprodutivo, os machos se tornam mais ativos e são vistos com maior frequência (THOMAS, 1999; FAGUNDES *et al.*, 2010a).

2.2 Características biológicas dos Jabutis

Ao contrário dos cágados, os quais passam a maior parte do tempo na água, os jabutis são animais exclusivamente terrestres e estão representados, no Brasil, pelas espécies: Jabuti-piranga, *Chelonoidis carbonaria* (BOUR, 1980) (*Testudo carbonaria* – SPIX, 1824) e jabuti-tinga, *Chelonoidis denticulatus* (OLSON e DAVID, 2014) (*Testudo denticulata* – LINNAEUS, 1766). Ambas possuem características morfológicas similares (FARIAS *et al.*, 2007), embora algumas diferenças já tenham sido descritas (VANZOLINI, 1999; JEROZOLIMSKI, 2005). Apesar das duas espécies viverem em simpatria, o jabuti-tinga tem predileção por florestas úmidas, enquanto o jabuti-piranga pode ocorrer também em áreas mais secas como a caatinga (TREBBAU, 1984; MOSKOVITS, 1988; PRITCHARD e MOREIRA, 1989; JEROZOLIMSKI, 2005).

Em ambas as espécies, o dimorfismo sexual é evidenciado pela avaliação do plastrão em animais adultos, na qual os machos possuem uma concavidade que facilita o encaixe do plastrão com a carapaça da fêmea durante a cópula (STEVENSON *et al.*, 2007; ZUFFI e PLAITANO, 2007; BARROS *et al.*, 2012). Além disso, machos são maiores que as fêmeas, sendo que para *C. carbonaria* eles chegam a medir 60 cm de carapaça, enquanto as fêmeas raramente ultrapassam 40 cm (MOSKOVITS, 1988).

Os jabutis são animais onívoros, possuem uma dieta rica em frutas, seguida por folhas, flores, fungos e invertebrados (MOSKOVITS e BJORN DAL, 1990; JEROZOLIMSKI *et al.*, 2009), sendo assim destacados como importantes dispersores de sementes (STRONG e FRAGOSO, 2006; GUZMÁN e STEVENSON, 2008; WANG *et al.*, 2011). A reprodução de uma dieta equilibrada em cativeiro ainda não está bem determinada,

tornando a manutenção destes répteis fora do ambiente natural um desafio (DI SANTO, 2021).

2.3 Aspectos reprodutivos dos Testudines

O ciclo reprodutivo dos testudines, assim como de outros répteis, é diretamente influenciado pela sazonalidade (KUCHLING, 1998; BLANVILLAIN *et al.*, 2011). Em muitas espécies subtropicais, a vitelogênese inicia-se no final do verão ou outono e continua até a primavera, quando ocorre a ovulação (CALLARD *et al.*, 1978; DUGGAN *et al.*, 2001). Fatores como temperatura, umidade e disponibilidade de alimentos podem interferir nos diferentes ciclos reprodutivos dos répteis. Por exemplo, Mayor *et al.* (2023) ao investigar o ciclo reprodutivo de *Chelonoidis denticulata* in situ, determinaram que, apesar das fêmeas apresentarem atividades reprodutivas durante o ano todo, ocorriam variações sazonais nas porcentagens de fêmeas grávidas, que foram influenciadas pelos níveis de precipitação e pelo nível da água do rio Amazonas.

Fagundes *et al.* (2010b) observaram que a estação reprodutiva para *Trachemys dorbigni* ocorre entre os meses de outubro e janeiro no sul do Brasil. De maneira semelhante, o estudo de Hernandez (1997) realizado na Venezuela observou que a temporada de nidificação para *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* ocorreu de outubro a março nos dois primeiros anos e de setembro a fevereiro no terceiro ano, ressaltando que a nidificação se inicia em meados da estação chuvosa e termina na estação seca.

A vitelogênese é uma importante fase do desenvolvimento folicular, em que o oócito acumula vitelo, que servirá de reserva alimentar para o embrião (KUCHLING, 1998). Esse processo é marcado por um aumento nos níveis de estradiol, que estimula o sistema hepático a secretar vitelogenina, uma proteína precursora da gema do ovo (BLANVILLAIN *et al.*, 2011; AMIRI *et al.*, 2023). Além do estrógeno, segundo Blanvillain *et al.* (2011), outro hormônio importante no ciclo reprodutivo das fêmeas é a progesterona, a qual é secretada pelo corpo lúteo após ovulação. Dessa forma, os níveis plasmáticos são elevados nessa ocasião. Ao longo do desenvolvimento folicular, ela será moderadamente reduzida e sofrerá novos picos durante cada postura.

Nos machos, a espermatogênese ocorre nos testículos e possui forte vínculo com a temperatura ambiental (KUCHLING, 1998). Desta forma, o pico de atividade gonadal foi registrado para diversas espécies de quelônios durante a estação mais quente do ano

(LAGARDE *et al.*, 2003; BLANVILLAIN *et al.*, 2011). Os espermatozoides são armazenados no epidídimo e, em menor grau, no ducto deferente, podendo ser produzidos no final da estação reprodutiva e armazenados até a próxima estação de acasalamento (WIBBELS *et al.*, 1990). A testosterona é o principal hormônio sexual masculino e seu pico está correlacionado à maior atividade de espermatogênese (KUCHLING, 1998). Em *Trachemys dorbigni* no sul do Brasil, Silva *et al.* (1984) observaram que a testosterona plasmática atingiu um pico durante a espermatogênese e nível basal baixo durante o acasalamento na primavera.

Além de mudanças fisiológicas, alterações comportamentais também são descritas para essas espécies. Foi o que demonstrou Zuffi e Plaitano (2007) após conduzir um estudo *in situ* no qual duas espécies de jabutis (*Chelonoidis carbonaria* e *Chelonoidis denticulata*) foram observadas ao longo do ano utilizando radiotransmissores. Durante o período seco, não reprodutivo, machos e fêmeas apresentaram menor atividade, permanecendo longos períodos numa mesma área. Já no período chuvoso, reprodutivo, machos apresentaram maior atividade, locomovendo-se em busca de fêmeas para acasalar.

Dados semelhantes foram verificados por Teixeira (2009), após acompanhar as variações hormonais do ciclo reprodutivo de um grupo de jabutis do zoológico de São Paulo. Foi identificado que a maior atividade nos animais coincide com o pico hormonal entre os meses de novembro e fevereiro. Além disso, o pico do estradiol nas fêmeas de *C. carbonaria* coincidiu com a maior temperatura ambiental, durante o verão, e nas fêmeas de *C. denticulata* o pico do estradiol coincidiu com a maior frequência de folículos desenvolvidos.

O acompanhamento do ciclo reprodutivo em testudines pode ser feito por meio da dosagem sérica ou plasmática de hormônios, bem como por enzimas relacionadas a essa atividade (BLANVILLAIN *et al.*, 2011). Níveis elevados de estradiol, cálcio, vitelogenina (Vtg), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), triglicerídeos e colesterol podem sugerir vitelogênese nas fêmeas (DUGGAN *et al.*, 2001; HENEN e HOFMEYER, 2003; TEIXEIRA, 2009; PRICE *et al.*, 2016). Além disso, técnicas de imagem são ótimas alternativas não invasivas de avaliar as estruturas reprodutivas internas dessas espécies (AMIRI *et al.*, 2023). Dentre elas, a tomografia computadorizada (TC)

pode ser considerada a melhor modalidade de imagem para detectar forma, atenuação, tamanho e número de folículos e ovos (GUMPENBERGER, 2017).

2.4 Variações do acúmulo gorduroso em répteis

O metabolismo energético dos répteis é um processo complexo e diferenciado da biologia desses animais. A maior parte da reserva energética é armazenada na forma de lipídeos, estratificados na forma de triacilgliceróis (triglicerídeos) (PRICE *et al.*, 2016). Além de lipídeos, o glicogênio é um carboidrato armazenado no fígado e nos músculos, que serve de reserva de glicose para manutenção de funções vitais, principalmente no cérebro e no coração (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

O fígado é o órgão mais importante no processamento das reservas energéticas (BEAUFRÈRE *et al.*, 2024). Após a digestão dos macronutrientes da alimentação, carboidratos e aminoácidos são absorvidos no sangue, enquanto os triglicerídeos da dieta são hidrolisados e re-esterificados nos enterócitos para serem exportados como lipoproteínas chamadas "enteromicrons", ou diretamente como ácidos graxos não estratificados (AGNEs) ligados à albumina (PRICE *et al.*, 2016). No fígado ou tecidos adiposos, esses AGNE são estratificados e armazenados na forma de triglicerídeos. Durante o jejum, a energia é suprida por glicogênio (glicogenólise no fígado ou músculos) e lipídios do tecido adiposo e do fígado (lipólise) (OLIVEIRA *et al.*, 2013; DI SANTO, 2021). Além disso, durante o ciclo reprodutivo, o estrogênio estimula o fígado a produzir vitelogenina e lipoproteínas de muito baixa densidade, que transportam triglicerídeos para o vitelo (DUGGAN *et al.*, 2001; PRICE *et al.*, 2016).

Ao contrário de mamíferos e aves, que armazenam gordura principalmente em locais subcutâneos para isolamento térmico, répteis são animais ectodérmicos e talvez por isso as reservas gordurosas nesses animais não tenham essa função. Em vez disso, a maioria dos répteis armazenam gordura em corpos gordurosos específicos localizados no celoma, provavelmente para facilitar a utilização deste recurso como reserva energética durante a reprodução, hibernação/estivação ou jejum (DIVERS e COOPER, 2000).

O armazenamento lipídico na forma de triglicerídeos pode ser feito em locais especializados, como os tecidos adiposos (ou corpo adiposo) (PRICE *et al.*, 2016). A localização desses tecidos é variável entre as espécies de répteis, podendo ser

acumulada pontualmente em regiões do celoma, como o par de corpos gordurosos abdominais das serpentes e lagartos e ao redor da base da cauda em algumas espécies de lagartos e crocodilianos (DIVERS e COOPER, 2000), ou ainda no interior de outros tecidos como o fígado e os músculos (DERICKSON, 1976; DIVERS e COOPER, 2000).

Quelônios podem armazenar lipídeos em tecidos adiposos difusos pelo celoma, principalmente nas regiões inguinais e ao redor dos membros pélvicos (PRICE *et al.*, 2016; TOMOVIĆ *et al.*, 2020).

Walden *et al.* (2022) avaliaram a deposição dos tecidos adipócitos por TC em tartarugas do deserto (*Gopherus agassizii*) e concluíram que esta espécie possui depósitos de gordura subcutâneos ou ao longo da carapaça, e pequenas quantidades de gordura celomática perto do coração, trato gastrointestinal e folículos. Adicionalmente, foi verificada a influência do sexo sobre a quantidade de reserva lipídica, em que as fêmeas apresentaram relativamente maior quantidade de gordura corporal em comparação com os machos.

Além da variação quanto ao sexo, a dinâmica de deposição de reserva gordurosa nos répteis também é associada à sazonalidade, podendo sofrer influência do ciclo reprodutivo e da hibernação ou estivação (DIVERS e COOPER, 2000; PRICE *et al.*, 2016). Desta forma, a deposição da reserva lipídica pode ser classificada em quatro tipos de armazenamento e padrões de utilização: (1) sem ciclagem, (2) ciclagem associada apenas ao inverno, (3) ciclagem associada à hibernação no inverno e à reprodução no verão e (4) ciclagem associada apenas à reprodução (FERRER *et al.*, 1987; XIANG e PEICHAO, 1990).

Em uma população de lagarto *Liolaemus koslowskyi*, Paz *et al.* (2019) detectaram que as principais reservas lipídicas foram os corpos gordurosos abdominais e a gordura extraída da cauda. O fígado também foi caracterizado como um importante meio de reserva. Depósitos de gordura nas pregas laterais do pescoço e na região axilar funcionaram como reservas auxiliares. As fêmeas apresentaram maior conteúdo lipídico geral, especialmente na cauda e no fígado, possivelmente devido às demandas energéticas da reprodução, enquanto os machos mostraram variações sazonais mais pronunciadas nas reservas lipídicas, com aumento significativo antes do inverno, sugerindo preparação para a brumação.

No estudo de Kwan (1994) com tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*), animais não reprodutores tinham camadas finas (<1 mm) de tecido adiposo na região subcarapacial, enquanto fêmeas reprodutoras tinham camadas adiposas espessas de até 2 cm.

Por sua vez, McPherson e Marion (1982) notaram que com a tartaruga *Sternotherus odoratus*, os lipídios da carcaça diminuíram em agosto, enquanto o conteúdo de lipídios do fígado aumentou pouco antes da vitelogênese. Isso sugere que os lipídios do tecido adiposo são transportados para o fígado para a síntese de precursores da gema.

Semelhante a isso, Xiang e Peichao (1990), após avaliarem carcaças de geckos de vida livre (*Gekko japonicus*), identificaram que os principais locais de reserva gordurosa foram os corpos adiposos e o fígado. O conteúdo lipídico do fígado de fêmeas foi significativamente maior do que o de machos. Além disso, as medições do conteúdo lipídico do fígado foram realizadas em diferentes estágios anuais (pico da vitelogênese, no início e fim da hibernação), demonstrando variações sazonais significativas no armazenamento de lipídios hepáticos.

2.5 Lipidose Hepática

A lipidose hepática, também chamada de esteatose, é uma condição metabólica comum em répteis, sendo relatada em diversas espécies, e caracterizada pelo acúmulo excessivo de lipídios nos hepatócitos, levando à disfunção hepática (SIMPSON, 2006; WRIGHT, 2012; NARDINI *et al.*, 2014; BEAUFRERE *et al.*, 2024). Essa condição é frequentemente associada a fatores como obesidade, dietas não balanceadas, recintos pequenos ou falta de enriquecimento, alterações metabólicas relacionadas ao ciclo reprodutivo ou condições ambientais impróprias, como temperaturas inadequadas ou estresse (DIVERS e COOPER, 2000).

Em criações sob cuidados humanos, os répteis frequentemente recebem dietas inadequadas, como rações de cães, ricas em amido gelatinizado, excesso de frutas ou insetos, culminando numa alimentação rica em gordura e carboidratos e pobre em fibra (DI SANTO, 2021). Esse desbalanço nutricional é um fator de risco importante para o desenvolvimento de lipidose hepática (DONOGHUE e MCKEOWN, 1999; OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2023). Além disso, os répteis, assim como peixes, têm alta capacidade de

converter glicose em lipídios (lipogênese), favorecendo ainda mais o acúmulo de gordura (PRICE *et al.*, 2017).

A fisiopatologia da lipidose hepática está relacionada ao acúmulo de triglicerídeos no interior dos hepatócitos, que pode ser um evento normal do metabolismo energético dos répteis, como visto anteriormente (PRICE *et al.*, 2017, DIVERS e COOPER, 2000; BEAUFRERE *et al.*, 2024). Porém, semelhante à esteatose humana e em outros mamíferos, o depósito excessivo de triglicérides nos hepatócitos leva à formação de vacúolos lipídicos microvesiculares e, posteriormente, macrovesiculares cada vez maiores, empurrando o núcleo da célula para a periferia (HOVE *et al.*, 2020; BARBOZA, 2021). Outra perda estrutural observada é a balonização dos hepatócitos, associada à degeneração hidrópica da célula (HOVE *et al.*, 2020). Inflamação, colangite, fibrose e necrose tecidual são outros agravantes que podem estar relacionados ao avanço da lipidose ou outras doenças hepáticas concomitantes (DI SANTO, 2021; BARBOZA *et al.*, 2023b).

Diferentemente da esteatose em humanos ou da doença em felinos e bovinos, não há evidências de resistência à insulina ou dislipidemia em répteis com lipidose hepática (BEAUFRERE *et al.*, 2024). Da mesma forma, a anorexia em animais com sobrepeso não é um provável fator contribuinte para a ocorrência da doença nos répteis, uma vez que esses animais podem se alimentar intermitentemente (WRIGHT, 2012; BEAUFRERE *et al.*, 2024). Além disso, répteis são ectotérmicos e o ambiente influencia profundamente o metabolismo energético, de maneira que as adaptações fisiológicas relacionadas a esse fator fazem com que eles se adaptem durante os longos períodos de jejum (DERICKSON, 1976; SILVA e MIGLIORINI, 1990; JIN *et al.*, 2024). Ainda vale acrescentar que os répteis não possuem bilirrubina, já que não possuem a enzima biliverdina redutase e, portanto, o principal pigmento biliar é a biliverdina (DIVERS e COOPER, 2000; WRIGHT, 2012).

Em resumo, durante períodos de abundância alimentar, os ácidos graxos são transportados para o fígado, onde são esterificados em triglicerídeos e armazenados (PRICE *et al.*, 2016). Em condições de estresse metabólico, como hibernação ou reprodução, esses lipídios são mobilizados para fornecer energia ou para a realização da vitelogênese nas fêmeas (DERICKSON, 1976). Apesar de ser um processo fisiológico, o

desequilíbrio do acúmulo de gordura no fígado pode se tornar patológico levando aos sinais de lipidose (DIVERS e COOPER, 2000; BARBOZA *et al.*, 2023).

Trata-se de uma doença crônica que pode apresentar sinais clínicos inespecíficos como perda de massa corpórea, anorexia, apatia e infertilidade. Nos casos mais avançados, o animal pode apresentar ascite, aparência ictérica da mucosa oral e morte (DIVERS e COOPER, 2000).

O tratamento da esteatose em répteis é um processo longo e consiste em oferecer condições ótimas de manejo, como manter a temperatura ambiental preferida pela espécie, realizar suporte hídrico e nutricional adequado, oferecendo dietas com baixo teor de gordura e alta proteína de fácil digestibilidade para carnívoros e formulações apropriadas para herbívoros (SIMPSON, 2006; WRIGHT, 2012). O uso de medicações específicas, como a carnitina, s-adenosilmetionina, silimarina, colina e metionina, pode contribuir para a regeneração hepática, embora não haja comprovação da eficácia em répteis (DIVERS e COOPER, 2000; COLON e GUPEMBERGUER, 2020).

2.6 Diagnóstico de Afecções Hepáticas

Apesar da lipidose ser a doença hepática mais frequente em répteis, outras afecções inflamatórias e infecciosas também podem ocorrer nessa víscera e devem ser incluídas no diagnóstico diferencial (DIVERS e COOPER, 2000). Pode-se descrever como possíveis causadores de lesões hepáticas bacterianas o grupo das enterobactérias, que são as mais relacionadas a septicemia em quelônios (ex.: *Aeromonas spp.* e *Salmonella spp.*) (MANS, 2013; O'ROURKE e LERTPIRIYAPONG, 2015). Em se tratando de agentes virais, destaca-se o adenovírus capaz de causar necrose hepática em testudines (SCHUMACHER *et al.*, 2012). É possível identificar inclusões intracelulares basofílicas e eosinofílicas nos hepatócitos durante avaliação histológica de animais acometidos por adenovirus (MARSCHANG, 2011; SCHUMACHER *et al.*, 2012; ASCHER *et al.*, 2013). Há relatos com altas taxas de mortalidade por esse agente em jabutis (RIVEIRA *et al.*, 2009; SCHUMACHER *et al.*, 2012). Áreas de necrose hepática, com a presença de corpos de inclusão em hepatócitos, foram também relatadas em infecções por Herpesvirus em tartarugas de água-doce e jabutis (JACOBSON, 1976; MCARTHUR *et al.*, 2002; O'ROURKE e LERTPIRIYAPONG, 2015). Por fim, doenças parasitárias, principalmente as amebíases (*Entamoeba invadens*), doenças fúngicas, toxinas e neoplasias compõem o diferencial

das doenças hepáticas nos testudines (MANS, 2013; O'ROURKE e LERTPIRIYAPONG, 2015).

O diagnóstico das doenças hepáticas em répteis pode ser realizado por meio de testes hematológicos, bioquímicos e exames de imagem avançada, porém o diagnóstico conclusivo da lipidose depende da avaliação histopatológica (DIVERS, 2010).

O exame histológico do fígado com lipidose revela acúmulo de lipídios nos hepatócitos, o qual pode ser classificado como microvesicular ou macrovesicular (HOVE *et al.*, 2020; BARBOZA *et al.*, 2023a). A avaliação das lâminas histológicas coradas com Hematoxilina e Eosina (H&E) não permite a completa diferenciação do tipo de material acumulado no interior dos vacúolos, uma vez que os hepatócitos podem armazenar água, triglicérides e glicogênio (BARBOZA, 2021; DI SANTO, 2021). Dessa forma, outras colorações são necessárias, como o Ácido Periódico de *Schiff* (PAS), que irá destacar as reservas de glicogênio e os processamentos para *Red Oil*, específicos para lipídios (KLEINER *et al.*, 2005; HOVE *et al.*, 2020; JIN *et al.*, 2024). Além disso, podem ser observados infiltrados inflamatórios, fibrose e necrose em casos de doença avançada (DIVERS e COOPER, 2000).

A colheita de material para exame histopatológico pode ser realizada *post mortem*, durante a necropsia, ou *ante mortem* pela biópsia (DIVERS e COOPER, 2000). Inúmeras técnicas de biópsia são descritas em literatura, sendo que a coleta de material por celioscopia demonstrou ser mais segura e culminar em melhores resultados (WEST, 2001; HERNANDEZ-DIVERS *et al.*, 2005; DIVERS, 2006; DIVERS *et al.*, 2010).

Outra abordagem para avaliação da esteatose é a pesquisa das enzimas hepáticas via bioquímica sérica e, nesse caso, a coleta de sangue pode ser procedida na veia jugular, nos seios subcarapaciais e supracarapaciais, e no plexo braquial (INNIS e KNOTEK, 2020).

Alterações nos parâmetros bioquímicos, como elevação das enzimas hepáticas (AST, ALT) e aumento dos níveis de colesterol e triglicérides, podem indicar lipidose hepática. No entanto, esses achados não são específicos e devem ser interpretados em conjunto com outros exames (CAMPBELL, 2012).

Dados importantes foram observados por Dutra (2014), o qual avaliou a sensibilidade dos exames da bioquímica sérica para o diagnóstico de lipidose hepática em 36 jabutis. Os resultados foram comparados com o histopatológico por biópsia

hepática. Segundo a avaliação histopatológica, a prevalência de lipidose neste grupo foi de 94,4%; entretanto, os resultados da bioquímica sérica apresentaram valores dentro da normalidade para a espécie. Também foi observado que os animais que apresentaram lesões hepáticas mais graves demonstraram valores de triglicérides maiores, porém não houve diferença estatística para as demais enzimas analisadas (ALT, AST, GGT, PT, ALb, GLob). Exames de imagem e coletas sazonais não foram realizados no estudo de Dutra (2014).

Outros biomarcadores vêm sendo testados para auxiliar no diagnóstico desta enfermidade em répteis (BARBOZA *et al.*, 2021). O Beta-hidroxiacetil-CoA (BHBA) se mostrou um biomarcador promissor nas pesquisas de Beaufriere *et al.* (2024) com lipidose em dragões barbados (*Pogona vitticeps*), onde valores significativamente menores foram observados em animais com a doença. Entretanto, os autores destacaram que a utilidade diagnóstica do BHBA pode ser limitada devido à sobreposição dos valores entre categorias de lesão e à ausência de associação significativa com a porcentagem de gordura e fibrose hepática, e ainda pontuaram que para fins de monitoramento, o BHBA deve ser medido após jejum padronizado de 24 horas.

Valores de referência para hemograma e bioquímica sérica de *Chelonoidis* sp. e *Trachemys* sp. estão descritos em literatura (BERGAMINI *et al.*, 2017; HERNADEZ *et al.*, 2017; CARPENTER, 2019; GRADELA *et al.*, 2020) mas os resultados dos exames laboratoriais apresentam menor sensibilidade se comparados aos exames de imagem avançada e exigem técnicos e patologistas com experiência em hematologia de répteis (DIVERS, 2006; MANS, 2013).

O exame ultrassonográfico é descrito para testudines, porém o tamanho do animal pode inviabilizar o exame, já que o transdutor deve ser posicionado na janela pré-femoral, um espaço restrito entre a carapaça e o plastrão, região onde se movimentam os membros pélvicos (GUMPENBERGER e HENNINGER, 2001; SCHUMACHER *et al.*, 2001; TEIXEIRA, 2009).

Já a TC, de acordo com Hathcock e Stickle (1993), é uma técnica de imagem avançada, que determina a atenuação radiológica dos tecidos em diferentes planos de imagem, transversal, dorsal, sagital e oblíquo, os quais são posteriormente reconstruídos em um modelo tridimensional com maior riqueza de detalhes do que o

raio-x convencional, possibilitando a identificação precoce de alterações. Neste exame, feixes de radiação são emitidos em direção ao organismo e podem ser absorvidos ou dispersos (atenuados). Essa diferença na absorção dos feixes de radiação (coeficiente de absorção) representa as densidades relativas de cada estrutura, produzindo uma imagem em escala de cinza e gerando assim uma medida quantitativa de avaliação, em que é possível calcular valores médios de atenuação (Unidades Hounsfield - HU) para cada tecido. A densimetria dos tecidos é calculada em HU, utilizando uma comparação em relação ao valor padronizado para a água (atenuação zero) (GUMPENBERGER e HENNINGER, 2001; TIDWELL, 2007). Além de ser uma avaliação com alta sensibilidade, o exame de TC em testudines dispensa a necessidade de anestesia geral, sendo uma opção segura de diagnóstico, se comparado ao exame histopatológico por biópsia hepática (BOONE *et al.*, 2008; WALDEN *et al.*, 2022).

Marchiori (2015) submeteu um grupo de 10 machos adultos de *Chelonoidis carbonaria* ao exame de TC para avaliação do parênquima hepático, obtendo então valores entre -14 a 21.1 HU. Neste trabalho, ele comparou os valores obtidos no seu grupo experimental aos valores citados por Gumpenberger e Henninger (2001) para outra espécie de testudine, o *Testudo hermanni*. Desta forma, seguindo a classificação de Gumpenberger e Henninger (2001), Marchiori (2015) concluiu que fígados com valores menores de 20 HU seriam considerados positivos para lipidose hepática. Dos 10 animais avaliados, sete apresentaram valores abaixo de 20 HU; nenhum outro exame diagnóstico foi realizado neste experimento, criando uma lacuna pelo fato de não terem confrontado esses dados ao exame histopatológico, considerado como padrão ouro.

Embora várias técnicas estejam sendo investigadas, e mesmo que a histopatologia ainda seja a única técnica validada para o diagnóstico definitivo e estadiamento da lipidose, recomenda-se que a avaliação hepática tenha múltiplas abordagens diagnósticas associando ainda a clínica e o histórico do animal (DIVERS e COOPER, 2000; NARDINI *et al.*, 2014).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada a avaliação tomográfica, hematológica, bioquímica sérica e histopatológica do fígado de 24 cágados (gênero *Trachemys sp*) e 26 Jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*), machos e fêmeas adultos, mantidos no Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP Campus Botucatu, SP.

As avaliações foram feitas em dois momentos: durante o período seco do inverno, quando os animais não estão se reproduzindo (junho e julho), e durante o período úmido do verão e época de reprodução para ambas as espécies (janeiro e fevereiro).

As coletas eram iniciadas com a separação dos animais em ambiente aquecido (26 a 30°C), para realização do jejum prévio dos animais de 48 horas, e posterior coleta de sangue e realização da TC. Após o exame, os animais eram soltos no recinto. Cerca de 12 dias depois da TC, os animais eram novamente separados para aquecimento e jejum de 48 horas, nas mesmas condições anteriores. A realização da celioscopia ocorreu aproximadamente 14 dias após a coleta de sangue e a TC. A somatória dos eventos: coleta de sangue, TC e celioscopia para coleta de biópsia hepática foi chamada de coleta (coleta 1 e 2) e ocorreu separadamente para cada grupo animal (cágados e jabutis), como exemplificado na Figura 1.

O exame físico utilizado para aferir a saúde aparente dos animais foi realizado a cada seis meses, desde o início até o final do estudo, e incluiu: avaliação da hidratação, coloração de mucosas orais e cloacais, frequência cardíaca e respiratória, massa corpórea, morfologia de carapaça e plastrão, comportamento, flutuabilidade/locomoção, presença de secreções e lesões aparentes.

A morfometria foi realizada anualmente em todos os animais com auxílio de uma mesa medidora e fita métrica para obtenção das mensurações. Exames coproparasitológicos e vermifugação também foram realizados anualmente (Figura 1).

O projeto foi autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta faculdade em abril de 2023, número 0350/2023 e dispensa autorização SISBIO segundo portaria ICMBIO nº 748, DE 19 DE SETEMBRO DE 2022.

	Fev 2023	Jun 2023	Fev 2024	Jun 2024	Fev 2025
Cágados	Av. Clínica	Av. Clínica	Av. Clínica	Av. Clínica	Av. Clínica
		EC		EC	
			Morfometria	Morfometria	
			Coleta 1 TG	Coleta 2 TG	
Jabutis	Av. Clínica	Av. Clínica	Av. Clínica	Av. Clínica	Av. Clínica
		EC		EC	
				Morfometria	Morfometria
				Coleta 1 JB	Coleta 2 JB

FIGURA 1: Cronologia das atividades e coleta de dados.

*Av. = Avaliação Clínica; EC = Exame Coproparasitológico; TG = Tigres D'água; JB = Jabutis.

3.1 Critérios para inclusão de animais na pesquisa

Apenas animais adultos, machos e fêmeas, classificados como clinicamente saudáveis, foram incluídos nesse estudo. Jabutis-piranga maiores de 2,5 kg, sexados pela concavidade do plastrão, e cágados do gênero *Trachemys* maiores de 0,8 kg, sexados pelas características da cauda. Animais com lesões em carapaça ou plastrão, sinais de debilidade ou curva de ganho de peso decrescente foram excluídos do projeto.

Considerou-se fator limitante para inclusão de animais no projeto que eles estivessem sendo monitorados e sob a mesma dieta alimentar há pelo menos um ano antes da primeira coleta de amostras biológicas. Por isso não foram incluídos novos animais nos grupos experimentais após janeiro de 2023.

3.2 Origem dos animais e manutenção

Foram selecionados Jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) e Tigres d'água (*Trachemys sp.*) encaminhados ao Centro de Medicina e Pesquisa de Animais Selvagens (CEMPAS) por meio de entrega voluntária ou apreensões, recebidos até dezembro de 2022. Os grupos de animais tiveram a alimentação e manejo padronizados e foram clinicamente avaliados a cada seis meses durante os três anos da pesquisa.

Os dois grupos de quelônios (jabutis e cágados) foram alojados em recintos similares, construídos em alvenaria, com área retangular de 8,2 m x 5,2 m, totalizando 42,64 m² de área cada um. Ambos os ambientes possuíam piso de terra e gramado, eram abertos (expostos ao ambiente), com uma área de cobertura em uma das extremidades (abrigo medindo 1 m x 4 m com 1 m de altura) e um tanque de água central com água

corrente. O tanque dos jabutis apresentava dimensões de 1,20 m x 2 m com profundidade de 20 cm. Já o tanque de água dos cágados possuía as mesmas dimensões de largura e comprimento, porém profundidade de 1 m e com rampa de acesso.

A alimentação dos jabutis foi realizada cinco dias por semana nos meses mais quentes e três vezes por semana nos meses mais frios. A dieta baseou-se em 60% de verduras (couve, chicória e almeirão), 20% de legumes (abóbora, beterraba, cenoura), 10% de frutas (banana, manga, maçã, mamão ou outra fruta da época) e 10% de ração comercial para jabutis adultos (Poytara®). Duas vezes na semana foi oferecida uma opção de proteína (ovo cozido ou carne moída suplementada com aminomix® e cálcio). Já a alimentação dos cágados foi realizada três vezes por semana nos meses mais quentes e duas vezes por semana no período mais frio, com ração para tigre d'água adulto (Poytara®).

A limpeza do recinto foi feita diariamente com rastelo e lavagem dos comedores. A lavagem do tanque de água foi realizada semanalmente.

3.3 Avaliação hematológica e bioquímica sérica

Após jejum de 48h, amostras de sangue foram coletadas nos dois grupos animais via veia jugular, a fim de evitar a contaminação com linfa. Foi utilizada agulha hipodérmica 22G para coleta nos jabutis e agulha hipodérmica 24G para os cágados. O sangue coletado foi utilizado para confecção imediata de esfregaço sanguíneo e o restante foi dividido em um frasco contendo heparina sódica, para realização da hematimetria, e em um tubo seco, sem ativador de coágulos, para avaliação das enzimas séricas. As avaliações hematológicas foram realizadas no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da FMVZ – UNESP Campus Botucatu.

O sangue total foi utilizado para determinar o volume globular, obtido a partir da centrifugação do microhematócrito. Posteriormente, a quebra do capilar permitiu avaliar o plasma no refratômetro e obter o valor da Proteína Plasmática Total (PPT). A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método de cianometahemoglobina (HiCN - LABTEST®). Ainda com a amostra do sangue em anticoagulante foi feita a contagem total de eritrócitos e leucócitos, determinada manualmente na câmara de Neubauer com diluente Natt-Herrick (1:100).

As lâminas de esfregaço sanguíneo foram coradas com Panótico rápido para a realização do diferencial e contagem dos tipos celulares, segundo a avaliação da morfologia: heterófilos, basófilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos, azurófilos e trombócitos. O valor final de cada grupo celular foi estimado pela técnica descrita por Campbell (2012) e Sykes e Klaphake (2015).

O exame bioquímico foi realizado com o plasma heparinizado para os cães e do soro coletado em tubo seco para os jabutis, valores de AST, PT, ALB, GLOB, cálcio e fósforo foram determinados pelo EBRAM® nos dois momentos.

3.4 Exame de imagem avançada

O exame de TC foi realizado no setor de Diagnóstico por Imagem da FMVZ – UNESP Campus Botucatu, sob supervisão de imaginologista experiente.

Após sedação com a associação de Cetamina (4 mg/kg) e Dexmedetomidina (0,1 mg/kg) via intramuscular para os cães e Propofol (4 mg/kg) intravenoso nos jabutis, os animais foram posicionados em decúbito ventral, com cabeça e membros estendidos (Figura 2-A).

O aparelho utilizado para obtenção das imagens, tomográfico helicoidal SCT-7800 TC (Shimadzu; Kyoto, Japão), foi devidamente calibrado. A técnica utilizada para jabutis foi de 120kVp e 160mA a 180mA, e para os cães d'água 120kVp e 150mA a 170mA (GUMPENBERGER e HENNINGER, 2001; NARDINI *et al.*, 2014).

Após a aquisição das imagens em corte transversal, essas foram reconstruídas nos demais planos (MPR), para seleção das regiões de interesse (*ROI*) e quantificação da Unidade Hounsfield (HU), tomando cuidado para não incluir estruturas vasculares nessa região. Foram selecionados de oito a doze *ROIs* por animal, sendo dois *ROIs* (ventral e dorsal) em cada lobo hepático (lobo direito e esquerdo) de três cortes diferentes para os cães e quatro cortes diferentes para os jabutis, cada um com área de 25mm², como demonstrado na Figura 2-B.

A avaliação do HU das imagens foi realizada por meio de ferramentas de mensuração do sistema PACS (*Synapse*, Fuji Medical System, Tokyo, Japan), assim como para obtenção da área total de carapaça e área hepática. As medidas da área hepática

total e da área de carapaça foram realizadas no corte transversal e padronizou-se a escolha do *slice* onde a vesícula biliar era mais bem visualizada (Figura 2-C).

Para a obtenção das medidas de deposição de gordura subcarapacial e volume subcarapacial foi utilizado o aplicativo *Slicer 3D* (Slicer.org, versão 5.8.0), por meio da ferramenta de segmentação *Threshold* -10 a -110 HU e -600 a +2600, respectivamente. A área total mensurada compreendeu toda a carapaça a partir do arco clavicular até o final da cintura pélvica, não sendo mensurados nesse caso o pescoço e os membros (Figura 2-D) (WALDEN *et al.*, 2022). Quando presente, a gordura intra-hepática foi quantificada em cm³ e a porcentagem calculada em relação ao total de gordura subcarapacial.

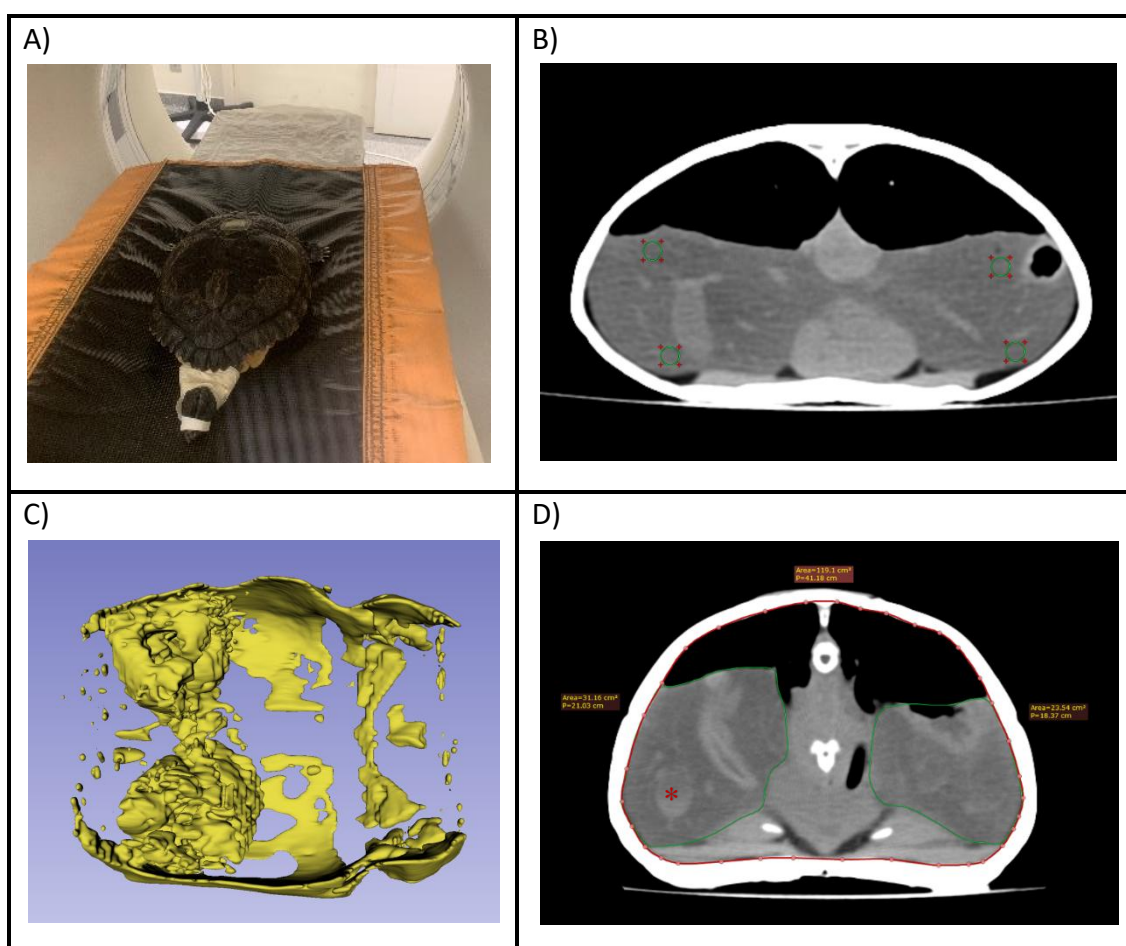


FIGURA 2: Obtenção das imagens de tomografia computadorizada e metodologias de avaliação. A) Demonstração do posicionamento dos animais na mesa tomográfica; B) Escolha das regiões de interesse (ROI) para avaliação do HU das imagens no plano transversal; C) Mensuração da gordura subcarapacial através de modelos de reconstrução 3D; D) Mensuração da área total da carapaça e da área hepática no *slice* onde a vesícula biliar (*) é visualizada melhor.

3.5 Celioscopia para coleta de biópsia hepática

Antes da realização do exame de celioscopia, os animais foram separados do recinto, mantidos em ambiente com temperatura controlada, aproximadamente 27°C, e jejum alimentar de 48 horas. Além disso, a preparação para o procedimento incluiu lavagem da carapaça e membros com iodo polividona 1% e água morna.

O protocolo anestésico incluiu: sedação com cetamina¹ na dose de 10 mg/kg associada na mesma seringa com midazolam² 0,4 mg/kg para os cágados e cetamina¹ 10 mg/kg e diazepam³ 0,5 mg/kg para os jabutis, aplicados via intramuscular no antebraço (MCGUIRE *et al.*, 2013; ESHAR *et al.*, 2021). Após relaxamento, o acesso venoso foi fixado na veia jugular com cateter intravenoso n.24 (*Trachemys* sp.) e n.22 (*Chelonoidis carbonaria*) e mantido durante todo o procedimento anestésico. A indução anestésica se deu com o uso de propofol⁴, dose de 5 mg/kg via intravenosa. Após relaxamento completo, o animal foi intubado com traqueotubo n. 2.0 a 3.0 para manutenção da anestesia inalatória utilizando-se isoflurano⁵ 2% misturado com oxigênio (SLADKY e MANS, 2012; DI SANTO, 2021). A analgesia foi obtida com a aplicação intratecal de lidocaína⁶ na dose de 4 mg/kg, associada com morfina⁷, na dose de 0,2 mg/kg. Após a finalização do procedimento, foi utilizado meloxicam⁸ 0,1 mg/kg intramuscular a cada 24 horas por cinco dias (MANS, 2013; PERRY e NEVAREZ, 2018).

Para iniciar a celioscopia lateral direita, o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo, e o acesso foi realizado na fossa femoral, técnica descrita por Schildger *et al.* (1999), objetivando o exame de biópsia hepática para avaliação histopatológica (WEST, 2001; DIVERS, 2006; BOONE *et al.*, 2008; DIVERS, 2010). O mesmo procedimento foi realizado no lado oposto.

Na técnica descrita por Schildger *et al.* (1999), após realizar a incisão de pele e divulsão dos tecidos cranioventral aos músculos sartório e ílaco, utilizou-se o guia do telescópio para romper a membrana celomática e acessar a cavidade. A insuflação da cavidade não se faz necessária para quelônios. A identificação do fígado foi imediatamente observada, sendo o lobo hepático direito maior que o esquerdo, favorecendo o acesso para a biópsia hepática nesse lado. Após identificação do parênquima hepático, procedeu-se a coleta da biópsia utilizando-se um fórceps para

biópsias modelo *BlasKesley* n.0 de 3,5x7 mm (*Karl Storz*[®]). Foram coletados fragmentos hepáticos em ambos os lobos esquerdo e direito, totalizando dois fragmentos de biópsia por animal, por coleta, conservados em formalina tamponada a 10%.

3.6 Histopatológico do tecido hepático

As amostras de biópsia mantidas em formol foram preparadas para o corte em parafina e processadas para confecção de lâminas em Hematoxilina e Eosina (H&E), coloração utilizada para as análises histológicas básicas, descrições morfológicas e avaliação da vacuolização do tecido. Os cortes em parafina foram ainda submetidos às técnicas histoquímicas específicas, sendo o *Tricômico de Masson (TM)* para avaliar o grau de fibrose hepática, quando presente, e ácido periódico de *Schiff (PAS)* para avaliação do depósito de glicogênio (KLEINER *et al.*, 2005; SARTORI *et al.*, 2022; BARBOZA *et al.*, 2023a).

Todas as lâminas foram sistematicamente avaliadas por dois patologistas experientes. Para caracterizar uma avaliação duplo-cega, os patologistas não tiveram acesso às informações dos animais, e ainda não tiveram acesso ao resultado da avaliação feita pelo outro. As fotomicrografias obtidas em câmera SONY IMX485LQJ-C acoplada ao microscópio foram utilizadas para realização da morfometria e detalhamento das estruturas observadas, sendo possível classificar o escore de lesões como sugerido por Barboza *et al.* (2023a). Os estudos de Di Santo *et al.* (2021) e Sartori *et al.* (2022) também foram considerados como modelos de referência para as análises histológicas (Tabela 1).

TABELA 1: Escala para avaliação histopatológica das amostras hepáticas (KLEIN *et al.*, 2005; DE DI SANTO, 2021; SARTORI *et al.*, 2022; BARBOZA *et al.*, 2023a).

Avaliações Lâminas Coradas em H&E		
Vacuolização microvesicular	Ausente	0
	presente	1
Vacuolização: Localização	Ao redor da veia hepática central	0
	Ao redor do espaço-porta	1
	Sem zoneamento	2
	Difuso	3
*Grau de Vacuolização	<5%	0
	>5%-33%	1
	>33%-66%	2

	>66%	3
Balonização: localização	Ao redor da veia hepática central	0
	Ao redor do espaço-porta	1
	Sem zoneamento	2
	Difuso	3
*Grau de Balonização	<5%	0
	>5%-33%	1
	>33%-66%	2
	>66%	3
Inflamação do parênquima	Ausência	0
	<2 focos por objetiva de 10x	1
	2-4 focos por objetiva de 10x	2
	>4 focos por objetiva de 10x	3
Inflamação Portal	Ausência	0
	Discreta, em alguns ou todos os espaços porta	1
	Moderada, em alguns ou todos os espaços porta	2
	Marcante, em todos os espaços porta	3
Hepatite de Interface	Ausência	0
	Discreta, em alguns ou todos os espaços porta	1
	Moderada, em alguns ou todos os espaços porta	2
	Marcante, em todos os espaços porta	3
Colangite	Ausência	0
	Discreta, em alguns ductos	1
	Moderada, em alguns ou todos os ductos	2
	Marcante, em todos os ductos	3
Necrose	Ausência	0
	<2 focos por objetiva de 10x	1
	2-4 focos por objetiva de 10x	2
	>4 focos	3
Presença de melanomacrófagos	Ausência a < 5% em 3 campos de 10x	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Avaliações Lâminas Coradas com PAS		
Depósito de glicogênio	Ausência a < 5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Avaliações Lâminas Coradas com Tricômio de Masson		
*Grau de Fibrose	Ausência	0
	Perinusoidal ou periportal	1
	Discreta ao redor da veia central, perisinusoidal	1
	Moderada ao redor da veia central, perisinusoidal ou portal/periportal	1

*Avaliações associadas ao grau de lipidose hepática.

3.7 Análise estatística

As análises estatísticas básicas foram realizadas no software *GraphPad-Prism* versão 8.0, enquanto os testes de correlação e regressão logística foram calculados pelo software *JAMOVI* versão 2.6 (THE JAMOVI PROJECT, 2024).

O teste *Shapiro-Wilk* foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados.

Para avaliar a influência da sazonalidade nas variáveis contínuas, como valores de hemograma, bioquímico, HU e porcentagem de gordura, foi utilizado o teste *T de Student* para amostras pareadas (quando dados paramétricos) e teste de *Wilcoxon* (quando dados não paramétricos). Já a avaliação da influência do sexo sobre as variáveis contínuas foi calculada pelo Teste *T Student* para amostras não-pareadas precedida pelo teste de correção de Welch (quando dados paramétricos) e pelo teste de *Mann-Whitney* (quando dados não-paramétricos).

A avaliação da massa corpórea foi a única medida com mais de duas aferições e, portanto, foi analisada utilizando-se o teste ANOVA com repetições e posteriormente teste *Tukey*, quando dados paramétricos, ou teste *Friedman* e posterior teste *Dunns*, quando dados não-paramétricos.

Testes de correlação de *Pearson*, para dados lineares, ou correlação de *Spearman*, para dados não-paramétricos, foram calculados entre as variáveis. As correlações que apresentaram valor estatístico e sentido biológico foram analisadas pelo teste de regressão linear (variáveis numéricas) ou regressão logística (variáveis ordinais ou categóricas).

Todos os testes estatísticos foram realizados com hipóteses bicaudais, em que os resultados foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

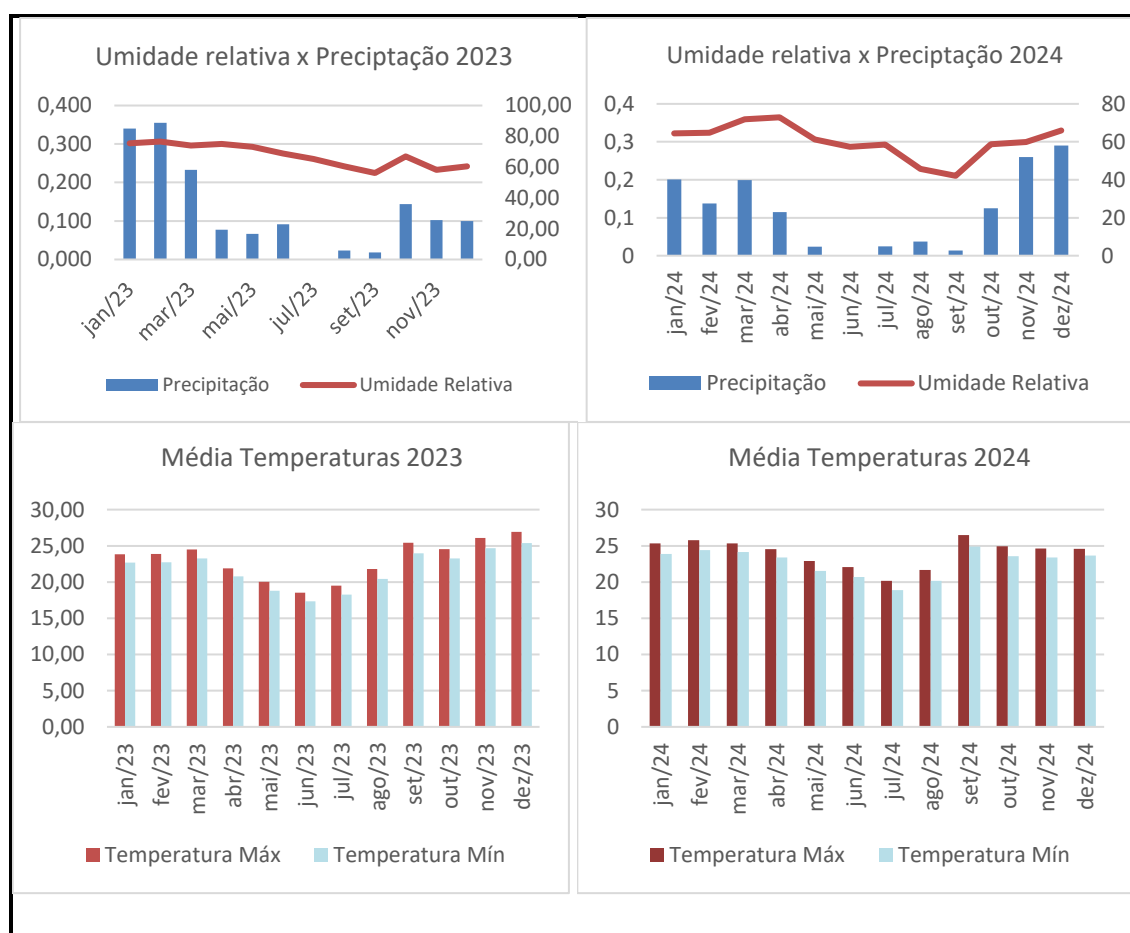
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DADOS METEREOLÓGICOS

O município de Botucatu está localizado na região centro-sul do estado de São Paulo, a 235 km da capital, e possui altitude elevada, variando entre 756 e 920 m'. O clima é classificado como savana tropical (Aw), com invernos secos e temperaturas amenas (média 18,2°C) e verões úmidos e quentes (média 26,5°C) (FRANCO et al., 2023).

O estudo de Franco et al. (2023) foi realizado na Estação Meteorológica do Departamento de Engenharia Rural e Socioeconomia da Faculdade de Ciências Agrônomicas (FCA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) de Botucatu (22°54’S, 48°27’O e 786m). Este estudo permitiu atualizar a classificação climática de Botucatu segundo a metodologia de Köppen e determinou as variações médias dos últimos anos, em que o município apresentou temperatura média do ar de 21,34°C, umidade relativa média do ar de 70% e precipitação média anual de 1500 mm.

Durante os anos de 2023 a 2025, dados sobre a climatologia do município foram coletados pela Estação Meteorológica da FCA – UNESP e disponibilizados para essa pesquisa. Foi possível observar que as variações meteorológicas em Botucatu se mantiveram semelhantes aos estudos de Franco et al. (2023), com variações de temperatura com médias mínimas de 17,9°C e máximas de 29,1°C, e umidade relativa média de 66,6% em 2024. As variações dos anos de 2023 e 2024 são detalhadas na Figura 3.



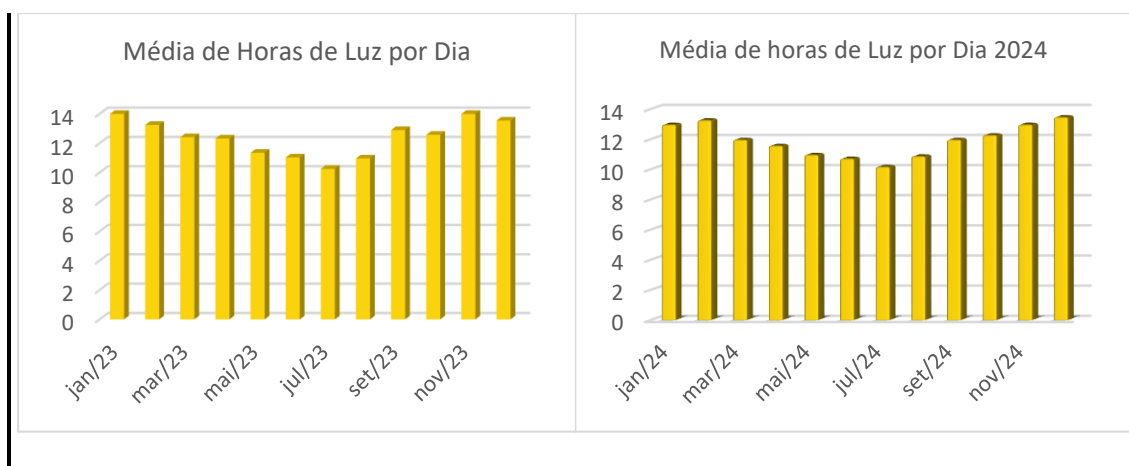


FIGURA 3: Levantamento das variações climáticas do Município de Botucatu segundo dados da Estação Meteorológica da FCA-UNESP. -Os dados meteorológicos são representados em gráficos com a variação anual de 2023 (esquerda) e 2024 (direita).

4.2 CÁGADOS (*Trachemys sp*)

Os resultados apresentados a seguir correspondem às avaliações dos animais em que foi possível realizar a repetição dos exames. Ao todo, quinze cágados, sendo oito fêmeas (quatro *Trachemys sp* e quatro *Trachemys dorbigni*) e sete machos (três *Trachemys sp* e quatro *Trachemys dorbigni*) foram avaliados no projeto.

A primeira avaliação ocorreu no período chuvoso (verão) no mês de janeiro a fevereiro de 2024, ao passo que a segunda coleta ocorreu na estação seca (inverno) nos meses de junho e julho do mesmo ano.

4.2.1 MORFOMETRIA E MASSA CORPOREA

Todos os animais mantiveram ganho de peso durante o período de observação, entre os anos 2023 e 2025. Apesar disso, não houve diferença estatística significativa da massa corpórea ou da morfometria dos animais nos dois períodos. Os dados detalhados da morfometria média dos dois períodos, de cada animal, são apresentados no Anexo 2.

Como demonstrado por Thomas *et al.* (1999) e Vogt *et al.* (2017), as fêmeas apresentaram tamanho e massa corpórea significativamente maiores que os machos em todos os períodos analisados (Teste T para amostras paramétricas não pareadas, $P=0,0067$). A variação da massa corpórea entre os períodos encontra-se destacada na Figura 4, sendo que, em geral, a massa corpórea das fêmeas variou entre 1,1 kg e 2,75

kg (média de 1,68 kg), enquanto nos machos o menor exemplar pesou 0,7 kg e o maior 1,1 kg (média de 0,85 kg).

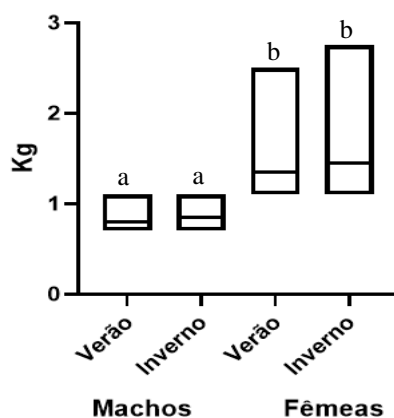


FIGURA 4: Gráfico da variação da massa corpórea (kg) dos cágados (*Trachemys sp.*) durante os dois períodos de avaliação, em que se observa a diferença de peso entre os sexos.

4.2.2 HEMOGRAMA E BIOQUÍMICO

Não foram encontradas diferenças estatísticas nos parâmetros hematológicos entre as duas espécies, por isso os resultados são apresentados em conjunto para o gênero *Trachemys*.

A avaliação entre sexos (machos x fêmeas) também não demonstrou diferenças estatísticas no grupo avaliado. Entretanto, a comparação entre os períodos apontou valores significativamente maiores para VCM ($P=0,0147$) e PPT ($P = 0,0078$) durante a estação seca (inverno). Ainda no inverno, os machos apresentaram maiores valores para hemoglobina e hematócrito, se comparados ao verão ($P=0,0156$ e $P=0,0218$, respectivamente). Os demais parâmetros hematológicos não apresentaram diferenças estatísticas, demonstrando que a sazonalidade não influenciou nesses dados.

Os valores hematológicos observados para o grupo dos cágados são apresentados na Tabela 2 e coincidem com os dados descritos por Medeiros *et al.* (2012), Hernandez *et al.* (2017) e Gradela *et al.* (2017) para *Trachemys scripta* e por Stein *et al.* (2015) e Gradela *et al.* (2017) para *Trachemys dorbigni*. Uma tabela comparativa com os valores descritos em literatura pode ser apreciada no Anexo 3.

Na estação chuvosa, dois animais apresentaram leucocitose moderada (9.000 e 10.000 unidades/ μ L) por heterofilia (6500 e 9000 unidades/ μ L, respectivamente), porém sem alterações em exames bioquímicos e sem alterações clínicas evidentes. O

hemograma se normalizou na estação seguinte. Os demais valores hematológicos encontram-se dentro dos valores de referência citados por Carpenter *et al.* (2019) e Fudge (2000).

Os valores da bioquímica sérica estão reportados na Tabela 3. Houve diferença estatística nos valores de triglicerídeos ($P=0,0121$), colesterol ($P=0,0059$) e cálcio ($P=0,0126$), nos quais as fêmeas apresentaram valores superiores destas enzimas em comparação aos machos, em ambos os períodos avaliados. Apesar disso, não foram observadas diferenças estatísticas nos valores destas enzimas entre os dois períodos.

Durante o período reprodutivo nas fêmeas, o aumento do estradiol estimula indiretamente a atividade de osteoclastos nos ossos, disponibilizando maiores concentrações de cálcio no sangue, necessários para a formação dos ovos e postura (KUCHLING, 1998; INNIS e KNOTEK, 2020). Dessa forma, é esperado que fêmeas tenham maiores concentrações de cálcio sérico em comparação com os machos, especialmente em períodos reprodutivos, como demonstrados nos estudos de Deem *et al.* (2009) e Goldberg *et al.* (2011), após avaliação bioquímica de tartarugas fêmeas em nidificação.

Em um estudo abrangente com quelônios, DiGirolamo *et al.* (2022) demonstraram que as concentrações de cálcio total (tCa) foram mais altas em fêmeas. Especificamente, o aumento na concentração de cálcio total em fêmeas durante a atividade reprodutiva é atribuído a um aumento no cálcio ligado a proteínas, e não no cálcio ionizado (biologicamente ativo). Ao contrário do cálcio total, a concentração de cálcio ionizado em quelônios não é significativamente influenciada pelo sexo. Estudos com diversas espécies de quelônios, incluindo *Trachemys scripta elegans*, *Testudo hermanni* e *Testudo graeca*, mostraram que o cálcio ionizado não difere significativamente entre machos e fêmeas, apesar do tCa ser mais alto nas fêmeas (EATWELL, 2009; DIGIROLAMO *et al.*, 2022).

Da mesma forma, acredita-se que o estradiol seja um estímulo para aumentar a lipólise nos adipócitos, disponibilizando lipídeos para a formação da gema do ovo pelo fígado (vitelogênese) e, portanto, os valores mais acentuados de colesterol e triglicérides nas fêmeas são justificados (ASADI *et al.*, 2007). Deem *et al.* (2009) e Goldberg *et al.* (2011) também encontraram maiores valores de colesterol e triglicérides para fêmeas em nidificação. Por fim, Innis e Knotek (2020) apresentaram dados de

triglicerídeos para cágados *Trachemys scripta elegans*, nos quais a faixa de valores para fêmeas (146–303 mg/dL) foi notavelmente superior à dos machos (29–59 mg/dL).

Os gráficos das variações sazonais para cada sexo estão demonstrados na figura 5. Nota-se que em ambos os sexos, no período do inverno, houve um aumento da proteína total (fêmeas $P=0,0066$ e machos $P=0,0105$) correlacionado à elevação da globulina (fêmeas $P=0,0050$ e machos $P=0,0088$). Possivelmente, com as quedas de temperatura ambiental e conseqüentemente da água no tanque dos animais, o metabolismo dos cágados tenha diminuído nesse período, reduzindo o consumo de água, funções hepáticas e renais, culminando em menor excreção de proteínas e possível desidratação, o que acarretou o aumento relativo dos constituintes plasmáticos.

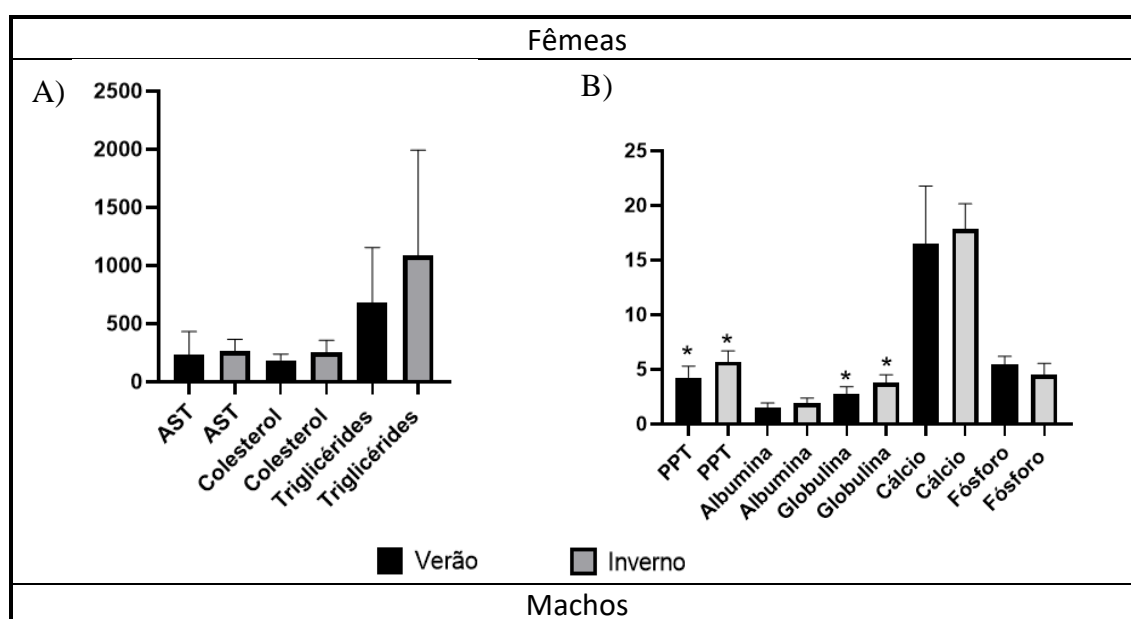
TABELA 2: Valores hematológicos de cágados do gênero *Trachemys* fêmeas (n=8) e machos (n=7), adultos, avaliados em duas estações no mesmo ano.

	Verão				Inverno			
	Fêmeas		Machos		Fêmeas		Machos	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	0,71	0,26	0,61	0,14	0,58	0,10	0,44	0,12
Hemoglobina (g/dL)	9,55	1,87	8,35	1,74	11,36	1,92	11,46	1,60
Hematócrito (%)	27,5	4,81	24,29	5,59	32,88	1,12	33,43	4,86
VCM (fL)	423	141,5	423	141,5	576,6	96,47	831,4	357,9
CHCM (%)	35,04	5,75	34,59	1,74	34,48	4,14	34,37	2,64
PT (g/dL)	4,6	1,64	3,51	0,53	7,65	1,07	5,9	1,55
Leucócitos (unidades/μL)	5967	3534	3081	1500	1822	571	2530	2607
Heterófilos %	79,8	10,03	74,3	11,4	73,75	12,4	67,3	7,87
Heterófilos (unidades/μL)	4747	2921	2332	1245	1342	511,5	1644	1603
Linfócitos %	8,4	10,4	9,4	7,2	15,4	9,4	20,6	9,7
Linfócitos (unidades/μL)	588,8	1101	235	160	27	186,9	564	729,5
Eosinófilos (%)	1,25	3,5	0	0	2,25	3	0,86	0
Eosinófilos (unidades/μL)	112,1	317,1	0	0	34,25	43,86	22	28,77
Basófilos (%)	0	0	0,14	0	0	0	0	0
Basófilos (unidades/μL)	0	0	6,85	18,14	0	0	0	0
Azurófilos (%)	5,88	8,2	12,4	8,5	8,9	5	11,15	2,3
Azurófilos (unidades/μL)	217,8	245,5	386	346,3	157,1	89,65	291,6	309,5
Monócitos (%)	3,8	6,1	3,8	7,3	1,5	2	0,15	0,4
Monócitos (unidades/μL)	222,3	334,3	120,6	245,5	31,8	43,29	8,71	23,06

TABELA 3: Valores bioquímicos de cágados (*Trachemys sp.*) machos e fêmeas adultos em dois períodos do mesmo ano, após jejum de 48h.

	Fêmeas (n=8)				Machos (n=7)			
	Verão		Inverno		Verão		Inverno	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
AST (UI/L)	230,6	201,4	265,6	99,0	235,9	84,33	315	117,9
PT (g/dL)	4,25	1,06	5,69	1,00	3,44	0,46	5,38	1,00
Albumina (g/dL)	1,52	0,4	1,92	0,43	1,13	0,36	2,01	0,47
Globulina (g/dL)	2,7	0,69	3,76	0,74	2,31	0,39	3,37	0,81
Cálcio (mg/dL)	16,5	5,29	17,85	2,30	9,3	1,05	11,75	5,12
Fósforo (mg/dL)	5,47	0,72	4,48	1,07	3,7	0,65	3,37	0,65
Colesterol (mg/dL)	186	53,31	250,7	106	107	36,71	140	27,4
Triglicérides (mg/dL)	681,1	474,8	1085	807,9	226,9	149,9	253	260,4

*AST: Aspartato Aminotransferase; PT: Proteína Total;



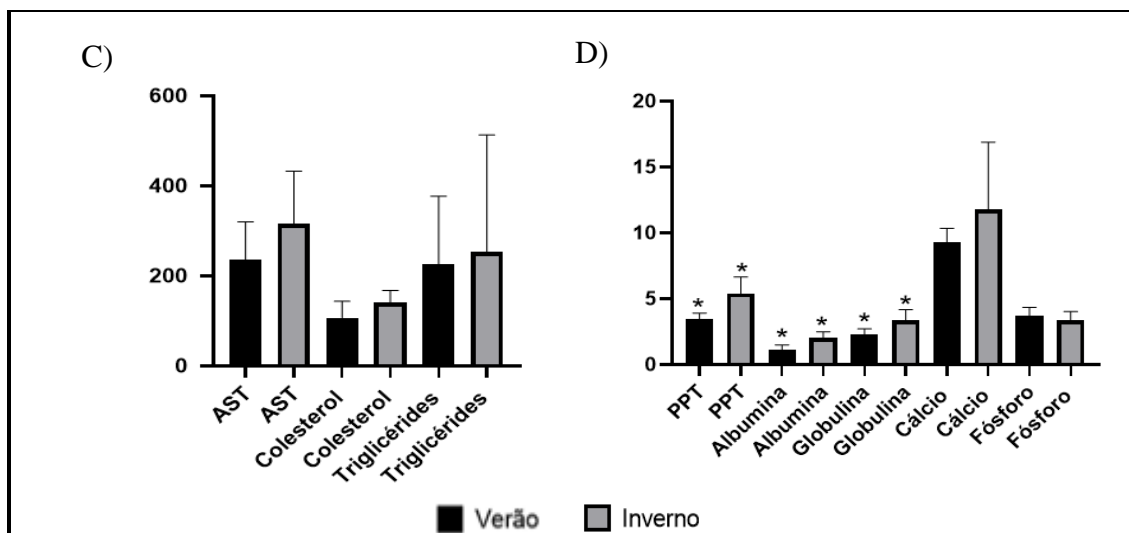


FIGURA 5: Variações bioquímicas séricas entre os períodos de verão (estação chuvosa) e inverno (estação seca) nas fêmeas (A-B) e machos (C-D) de cágados (*Trachemys sp.*). *Variáveis onde foram encontradas diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$)

Sabe-se que as variações nos perfis minerais, lipídicos e enzimáticos são dinâmicas e podem estar associadas não apenas às características fisiológicas do animal, mas também a fatores nutricionais e endócrinos (INNIS e KNOTEK, 2020). Ao avaliar o coeficiente de correlação entre as variáveis do exame bioquímico, colesterol e triglicérides, verificou-se forte correlação positiva ($R = 0,859$; $P < 0,001$), como esperado, uma vez que se trata de dois componentes lipídicos que compartilham precursores nas respectivas vias metabólicas. Da mesma forma que seria esperado que as proteínas (PT, albumina e globulina) também mantivessem forte correlação ($Rho = 0,776$; $P < 0,001$), assim como os minerais, cálcio e fósforo ($Rho = 0,555$; $P = 0,001$). A enzima AST teve moderada correlação apenas com as proteínas, albumina ($Rho = 0,420$; $P = 0,021$) e globulina ($Rho = 0,566$; $P = 0,001$). Demais correlações referentes ao exame bioquímico podem ser apreciadas na Tabela 4.

TABELA 4: Matriz de correlações das variáveis analisadas na bioquímica sérica de cágados *Trachemys sp.*

		Alb	Glob	CT	TG	Cálcio	Fósforo
Glob	Rho de Spearman	0.776***	—				
	p-value	<.001	—				

TABELA 4: Matriz de correlações das variáveis analisadas na bioquímica sérica de cães *Trachemys sp.*

		Alb	Glob	CT	TG	Cálcio	Fósforo
CT	Rho de Spearman	0.547**	0.346	—			
	p-value	0.002	0.061	—			
TG	R de Pearson	0.237	0.179	0.859****	—		
	p-value	0.207	0.345	<.001	—		
Cálcio	Rho de Spearman	0.521**	0.546**	0.574***	0.417*	—	
	p-value	0.003	0.002	<.001	0.022	—	
Fósforo	Rho de Spearman	0.126	-0.065	0.596***	0.646***	0.555**	—
	p-value	0.507	0.734	<.001	<.001	0.001	—
AST	Rho de Spearman	0.420**	0.566**	-0.025	-0.078	0.163	-
	p-value	0.021	0.001	0.895	0.681	0.391	0.217

Alb=Albumina; Glob=Globulina; CT=Colesterol Total; TG=Triglicérides; AST=Aspartato Aminotransferase. Correlação: *fraca, **moderada, ***forte e ****muito forte.

4.2.3 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

Durante o período do verão, a atenuação média em HU das imagens tomográficas foi de 69,59 HU, sendo o valor mínimo obtido de -12,5 HU e o máximo de 94,2 HU. Já no inverno, a atenuação média em HU das imagens tomográficas foi de 70,47 HU, sendo o valor mínimo obtido de 12 HU e o máximo de 102 HU.

Não houve diferença significativa nos valores de atenuação hepática (HU) entre os períodos analisados, indicando que a sazonalidade não interferiu nesse parâmetro. Por outro lado, observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os sexos, com os machos apresentando valores de HU hepáticos mais elevados em comparação às fêmeas ($P = 0,0182$). Essa diferença pode ser atribuída à maior concentração de lipídios no fígado das fêmeas, decorrente do processo de vitelogênese (Figura 6).

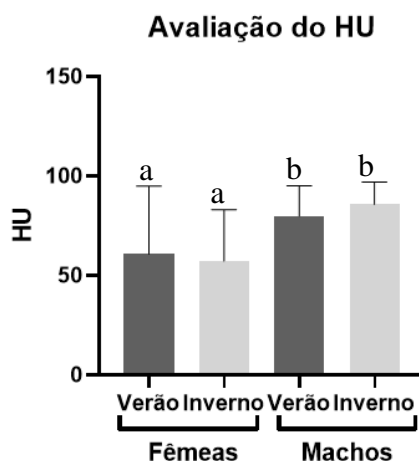


FIGURA 6: Influência da sazonalidade e do sexo no HU Hepático de *Trachemys sp.*

A avaliação da área hepática no plano transversal foi dividida pela área total da cavidade celomática. Esta razão foi utilizada para determinar aproximadamente qual a porcentagem que o fígado ocupa na cavidade celomática neste corte. A média dessa razão foi de 0,35 no verão e 0,43 no inverno, o que significa que o fígado ocupou nesse corte cerca de 35% e 43% da área interna da carapaça respectivamente. Fêmeas apresentaram medidas levemente maiores que machos durante o verão (0,38 e 0,31 respectivamente), porém sem diferença estatística relevante. No inverno, machos apresentaram medidas levemente maiores que as fêmeas (0,44 e 0,42 respectivamente), também sem diferenças estatísticas significativas (Figura 7).

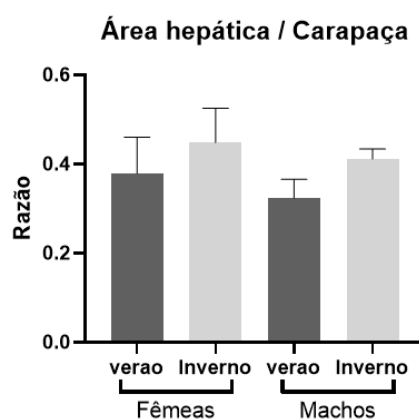
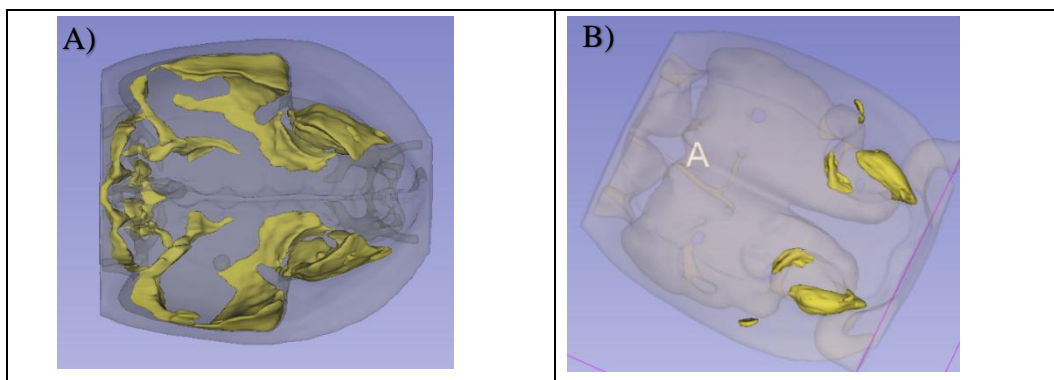


FIGURA 7: Influência da sazonalidade e do sexo na razão entre área hepática e área total da carapaça de *Trachemys sp.*

Todas as fêmeas apresentaram folículos em diversas fases do desenvolvimento em ambos os períodos, porém a média de folículos foi maior no inverno (36 folículos) em comparação com o verão (23 folículos). O tamanho dos folículos variou entre 0,03 cm e 4,71 cm de diâmetro nos períodos, sendo que no inverno houve predominância de folículos maiores de 1 cm, enquanto no verão a maior quantidade de folículos tinha entre 0,1-0,99 cm. Além disso, apenas no período do inverno foi observada a presença de ovos com casca formada.

A gordura celomática estava distribuída nas áreas próximas a região inguinal e se estendeu em alguns animais para as paredes laterais da parede celomática até clavícula, como mostra a Figura 8, o qual se assemelha a outros testudines e diferiu dos outros grupos de répteis como lagartos e crocodilianos, que possuem bolsas de gordura na região do assoalho ventral do celoma e placas gordurosas ao redor da base da cauda (DIVERS e COOPER, 2010; TOMOVIĆ *et al.*, 2020; WALDEN, 2022). A média de acúmulo gorduroso subcarapacial foi significativamente ($P=0,0022$) maior nas fêmeas (média de 45,33 cm³ ou 4%) do que nos machos (média de 7,95 cm³ ou 1,25%), em ambos os períodos. Durante o inverno, a gordura celomática teve a mesma distribuição para as fêmeas e um leve aumento nos machos, porém sem diferença estatística significativa.



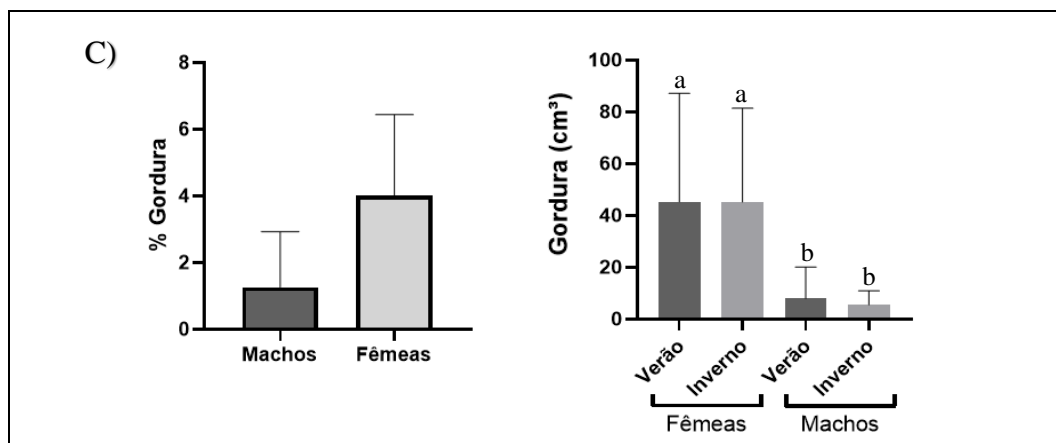


FIGURA 8: Avaliação da deposição gordurosa subcarapacial em *Trachemys* sp. Observa-se diferença na quantidade de gordura nas fêmeas (A) em relação aos machos (B) e sua variação em relação à sazonalidade (C). Imagens de reconstrução 3D dos depósitos gordurosos pelo 3D Slicer (A-B) e gráficos das médias de gordura subcarapacial (C).

Ao correlacionar as variáveis analisadas na TC para machos e fêmeas separadamente, foi observada moderada correlação positiva entre % Área Hepática e % Gordura Subcarapacial ($Rho=0,423$; $P=0,02$), moderada correlação negativa entre % Área Hepática e HU hepático ($Rho=0,448$; $P=0,013$); além de forte correlação negativa entre % Gordura Subcarapacial e HU Hepático ($Rho=0,631$; $P<0,001$).

4.2.4 CELIOSCOPIA

Durante a celioscopia foi realizada a avaliação macroscópica hepática. Nos cágados, além das características dos bordos hepáticos, a avaliação do tamanho da víscera pôde ser feita pela comparação com o estômago. Dessa forma, nos animais que possuíam bordos afilados sugestivos de microhepatia, o estômago foi mais evidente, enquanto nos animais com bordos abaulados sugestivos de hepatomegalia, o estômago não era visível. O quadro a seguir demonstra a visualização do fígado em diferentes animais e é possível fazer a comparação da exposição do estômago (Figura 9).

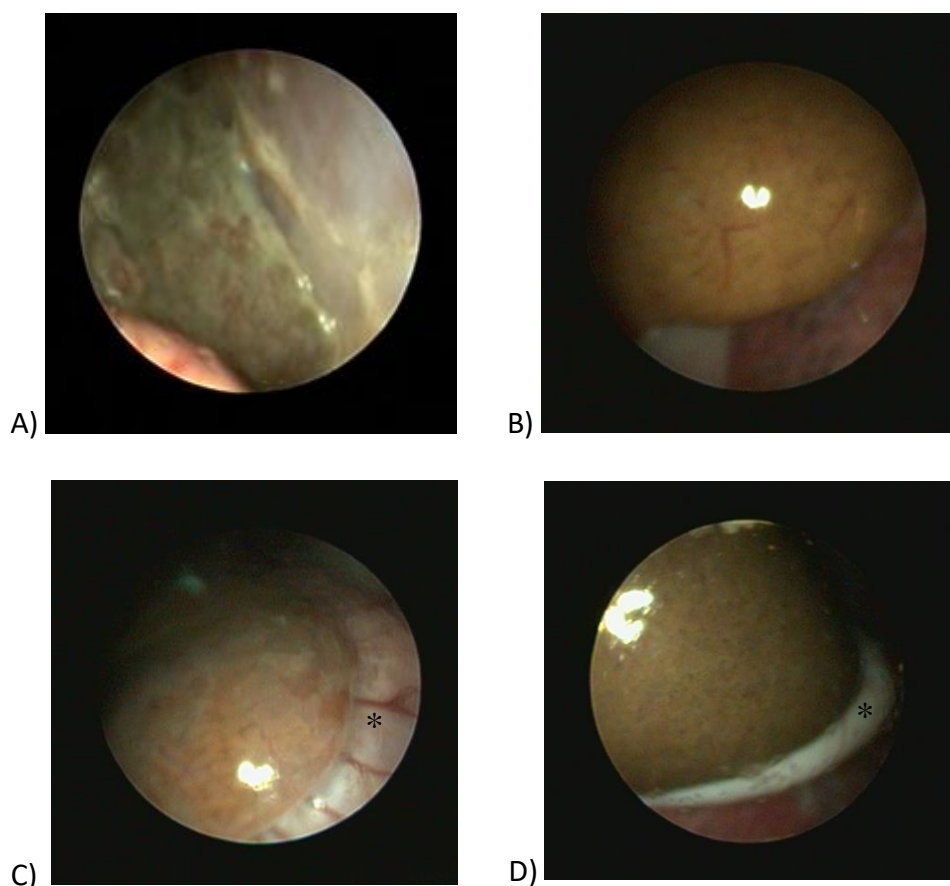


FIGURA 9: Avaliação macroscópica do parênquima hepático de cágados (*Trachemys* sp.) por celioscopia. Avaliação do lobo hepático esquerdo: A) Microhepatia observada pelo afilamento dos bordos hepáticos; Coloração acinzentada da víscera e aderência na parede do celoma; B) Lobo hepático amarelado, hepatomegalia com espessamento dos bordos. Estômago não visualizado. C) Fígado de coloração mais clara, levemente acinzentado, bordos afilados e grande exposição do estômago (*); D) Fígado acastanhado de tamanho e bordos normais. É possível observar pequena porção da curvatura maior do estômago (*);

No verão, 60% dos cágados apresentaram lobos hepáticos de coloração acastanhada, algumas vezes amareladas, com bordos regulares e dimensões preservadas; 20% tinham o fígado castanho acinzentado, bordos delgados e dimensões hepáticas reduzidas e, por fim, 20% apresentaram coloração mais amarelada da víscera, bordos abaulados e dimensões aparentemente estendidas do fígado. Já no inverno, 80% dos fígados possuíam dimensões preservadas e coloração acastanhada, por vezes mais amarelada. Apenas 13% apresentaram bordos afilados e coloração mais acinzentada da víscera, e 7% fígado mais amarelo e bordos abaulados. A descrição completa das características avaliadas na celioscopia está apresentada a seguir na Tabela 5.

TABELA 5: Prevalência das variáveis qualitativas observadas na avaliação macroscópica do fígado de *Trachemys* sp. durante celioscopia (n=15).

	VERÃO	INVERNO
Coloração Hepática:		
Acinzentada	20%	13%
Acastanhado para amarelado	60%	80%
Amarelo	20%	7%
Bordos Hepáticos:		
Afilados	20%	13%
Normais	60%	73%
Abaulados	20%	13%
Presença de Líquido Livre	75%	60%
Celomite evidente	26,6%	13%

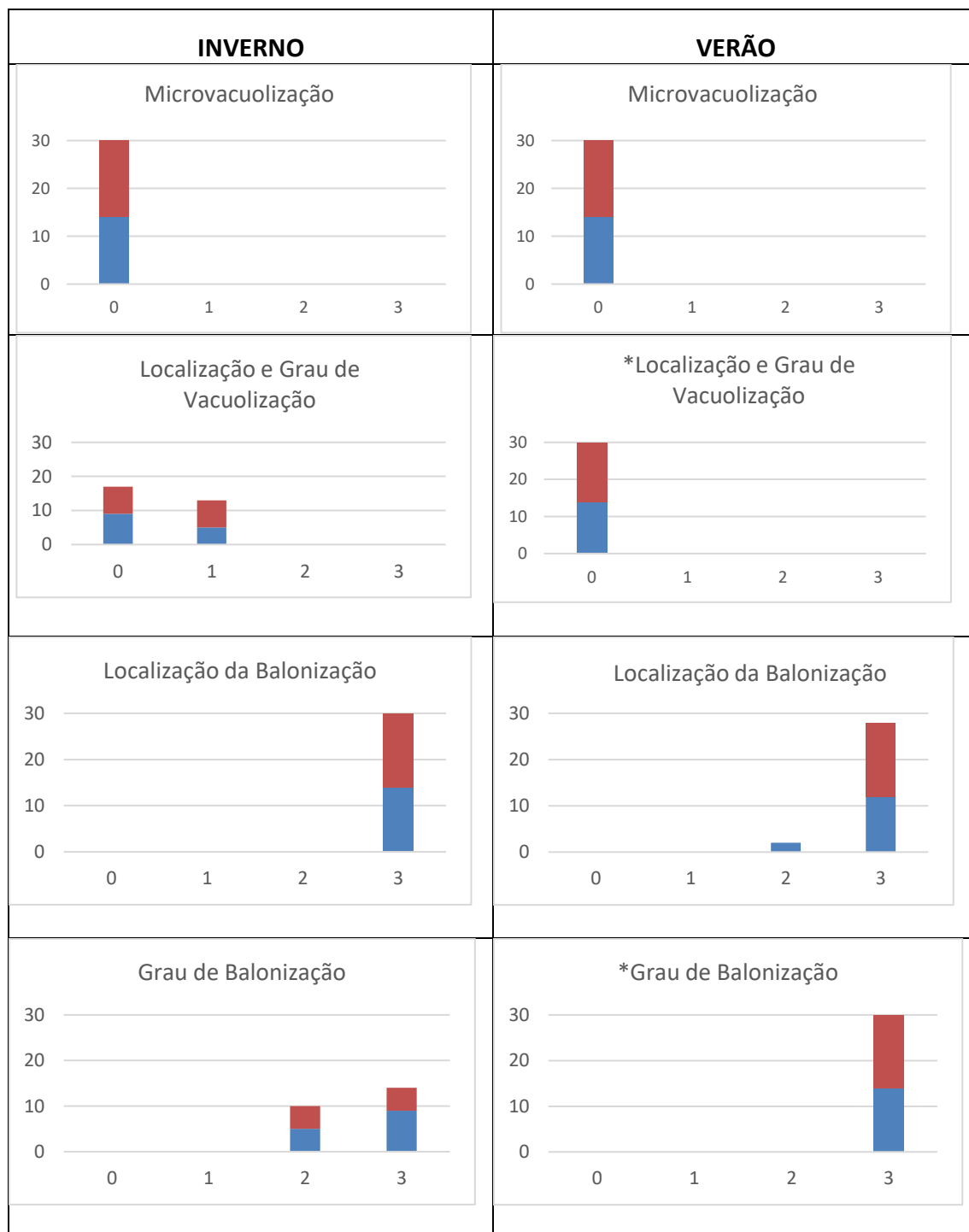
A presença de líquido livre em celoma foi um achado comum nesse exame, no qual 75% dos animais foram positivos no verão e 60% no inverno. Porém, no período reprodutivo (verão), quatro fêmeas apresentaram celomite marcada por intensa quantidade de líquido livre, presença de placas amareladas difusas no celoma e leve a moderada aderência das vísceras. Foram avaliados cultivos microbiológicos e fúngicos de *swabs* e fragmentos hepáticos desses animais, todos negativos. Tais características inflamatórias não foram observadas no período seguinte para três dos animais, apenas uma fêmea permaneceu com as aderências e intensa quantidade de líquido livre no inverno. Esse mesmo animal não demonstrou alterações no hemograma, mas apresentou altos níveis de AST (acima de 400U/L), severa quantidade de fibrose hepática na avaliação histopatológica com inflamação do parênquima hepático, sugerindo uma lesão crônica e em estágio avançado.

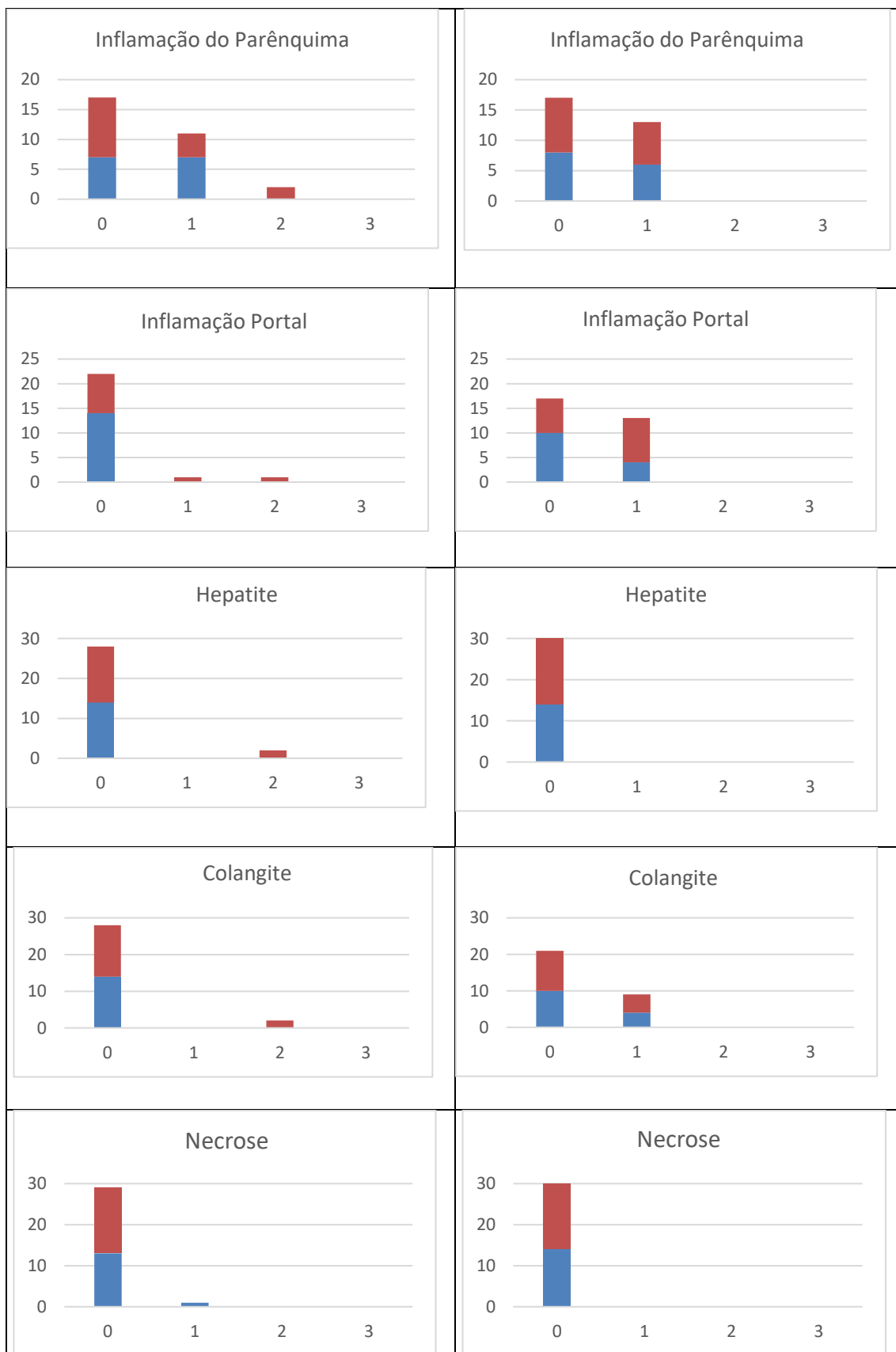
4.2.5 HISTOPATOLÓGICO DA BIÓPSIA HEPÁTICA

A avaliação histológica foi realizada nos dois tempos para ambos os lobos hepáticos direito e esquerdo (n=30); entretanto, não houve diferença entre os lobos. Também não houve diferença na comparação entre os sexos.

Em geral, os cágados apresentaram grau leve ou nenhuma microvacuolização e macrovacuolização, assim como leve ou nenhuma inflamação no período do inverno. Os níveis de balonização do tecido hepático se elevaram no verão, especialmente para as

fêmeas, as quais apresentaram grau mais elevado de balonização no período úmido, porém menor grau e distribuição da vacuolização ($P=0,0020$ para ambas as variáveis). A variação sazonal da histologia hepática está demonstrada em gráficos na Figura 10.





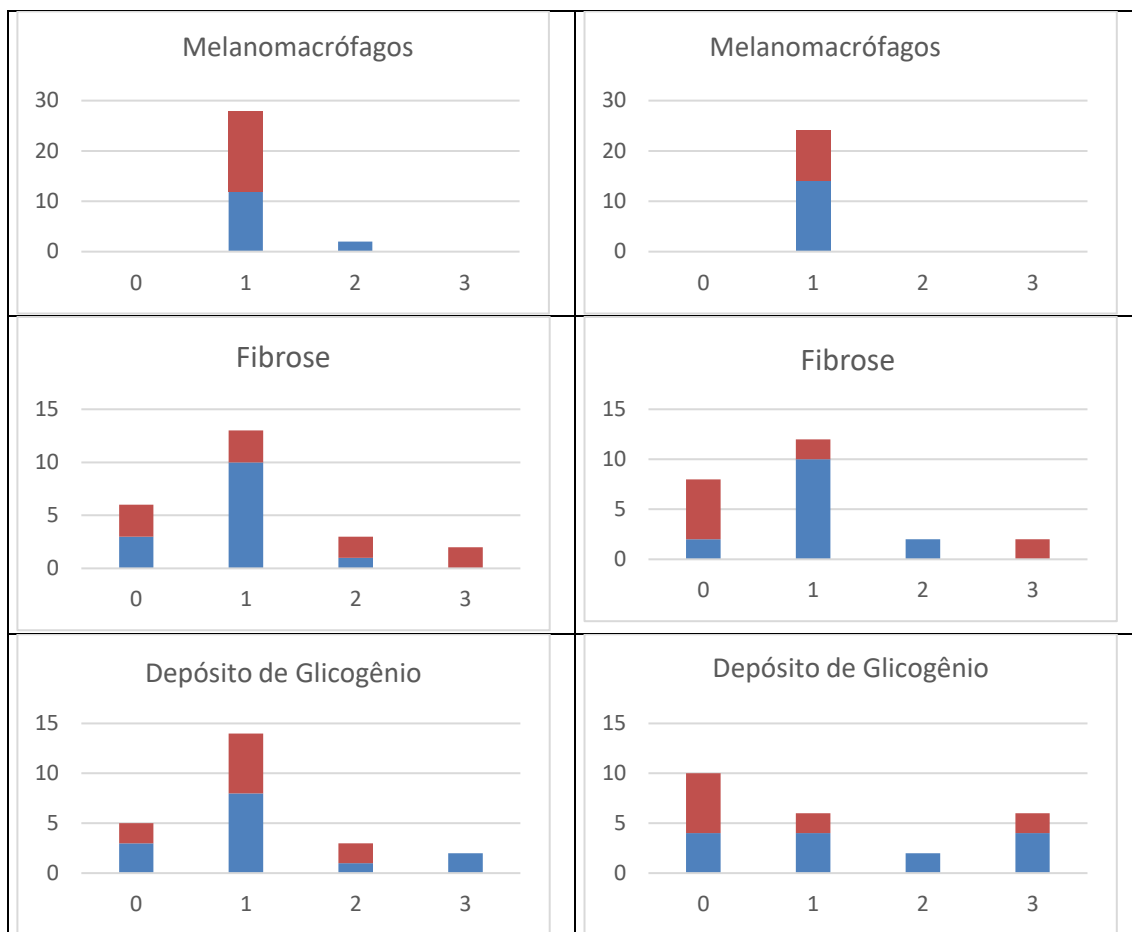
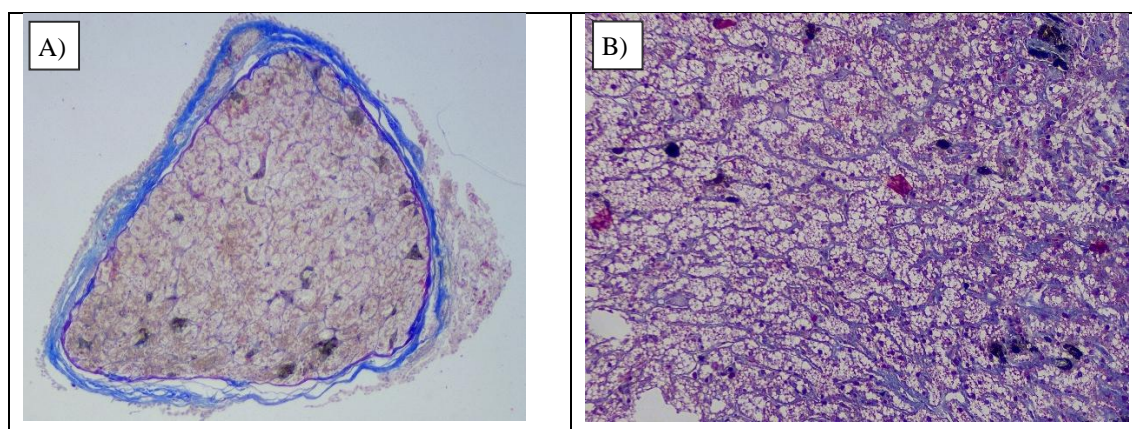


FIGURA 10: Análise por escore de lesões histopatológicas do tecido hepático de cágados *Trachemys* sp. em diferentes estações. Fêmeas em vermelho e machos em azul. *Diferença estatística relevante entre os períodos.

Áreas de fibrose e depósitos de glicogênio foram observados em ambos os períodos, distribuídos em diferentes graus de acometimento, porém sem diferenças estatísticas quando comparados entre os sexos e os tempos (Figura 11).



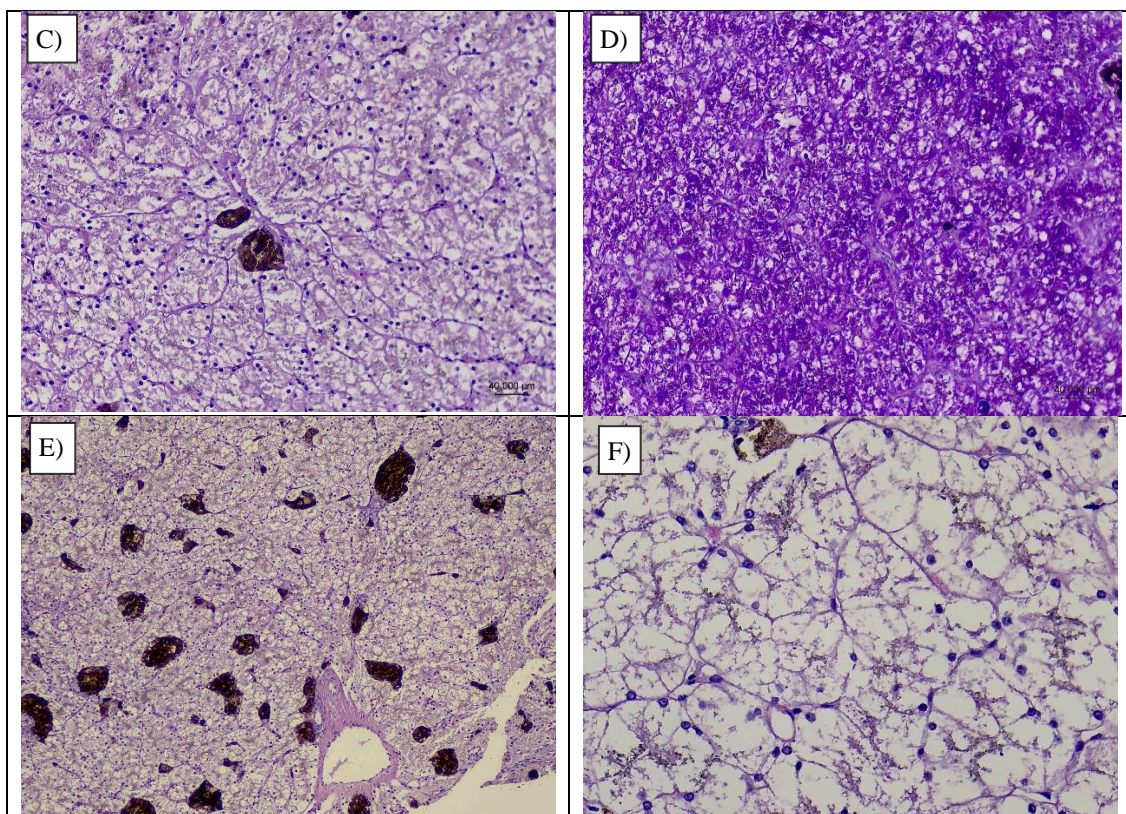


FIGURA 11: Avaliação histológica hepática dos cães. Diferentes técnicas histoquímicas usadas na avaliação hepática: Tricômico de Masson: Fibrose perissinusoidal e periportal em aumento de 40x (A) e 200x (B); PAS: Observar antes (C) e depois da coloração (D), evidenciando depósito de glicogênio, aumento de 200x. Hematoxilina e Eosina (E e F): morfologia hepática, avaliação dos vacúolos, balonização e características inflamatórias, aumento 100x.

Apesar da presença do glicogênio no citoplasma dos hepatócitos ter aumentado no verão, essa diferença não foi significativa. Sendo assim, dada a ausência de vacuolizações bem definidas e a baixa glicogenose, é possível que a elevação da balonização do tecido no verão esteja associada à degeneração hidrópica das células. Morfologicamente, a degeneração hidrópica é representada pelo citoplasma celular mais pálido, com aparência de vacúolos finos com pouca definição e pouco deslocamento do núcleo (Figura 11-F).

4.2.6 TESTES DE CORRELAÇÃO

Foi verificada a existência de correlação entre as três metodologias de avaliação do tecido hepático: bioquímica sérica (AST, PT, Albumina, Globulina, Triglicérides, Colesterol e Cálcio), tomografia computadorizada (HU hepático e porcentagem de

gordura subcarapacial) e histologia hepática. Para a realização dos cálculos de correlação e regressão, foi utilizado o software JAMOVI® (THE JAMOVI PROJECT, 2024).

Ao correlacionar o exame bioquímico (AST, Triglicérides e Colesterol) com a tomografia computadorizada (HU, % Área Hepática e % Gordura), foi observada moderada correlação positiva entre % Área Hepática e Colesterol ($Rho=0,450$; $P=0,013$), e % área hepática e Triglicérides ($Rho=0,472$; $P=0,008$); Além de forte correlação positiva entre % Gordura Subcarapacial e Triglicérides ($Rho=0,665$; $P<0,001$) e % Gordura Subcarapacial e Colesterol ($Rho=0,649$; $P<0,001$). Essas interações podem sugerir que o aumento de triglicérides e colesterol, possivelmente provenientes da dieta, eleva a reserva de gordura subcarapacial e pode levar à maior deposição de gordura hepática, levando ao aumento da víscera. Demais correlações não foram significativas (Tabela 6).

A análise bioquímica teve correlações fracas a moderadas com o histopatológico do tecido hepático (Tabela 7), na qual maior grau de vacuolização e balonização inferiram em correlações opostas, uma vez que essas variáveis apresentaram correlação inversa ($P<0,0001$; $Rho=-1,00$). Dessa forma, maior grau de balonização e conseqüentemente menor grau de vacuolização, inferiram moderadamente em maiores valores de globulinas ($P<0,0001$; $Rho=0,464$), cálcio ($P<0,001$; $Rho=0,486$) e fósforo ($P=0,033$; $Rho=0,308$). Essa associação pode refletir um estado inflamatório sistêmico, em que ocorre resposta imunológica e alterações no metabolismo mineral. Além disso, a elevação dos minerais ocorreu no verão, quando é esperada maior disponibilidade desses minerais em decorrência da reprodução.

Ainda, a enzima AST teve correlação fraca com a fibrose hepática ($P=0,011$; $Rho=0,364$). Nota-se que todos os animais que tiveram AST mais elevada, acima dos valores de referência, apresentaram moderado a elevado grau de fibrose. Porém, nem todos os animais com maior grau de fibrose tiveram de fato AST elevada, sinalizando uma característica de lesões mais crônicas. Vale ressaltar que a AST nos répteis, assim como nos mamíferos, não é uma enzima específica do sistema hepático e, portanto, pode estar relacionada ao sistema muscular, renal, cardíaco ou cerebral (CAMPBELL, 2012).

TABELA 6: Matriz de correlações entre bioquímica sérica e tomografia computadorizada dos cágados.

		AST	CT	TG	HU Hepático	Área Hepática
	p-value	—				
CT	Rho de Spearman	-0.025	—			
	p-value	0.895	—			
TG	Rho de Spearman	-0.078	0.706***	—		
	p-value	0.681	<.001	—		
HU Hepático	Rho de Spearman	0.135	-0.245	-0.354	—	
	p-value	0.476	0.191	0.055	—	
Área Hepática	Rho de Spearman	0.029	0.450**	0.472**	-0.448**	—
	p-value	0.879	0.013	0.008	0.013	—
% Gordura Subc.	Rho de Spearman	0.009	0.649***	0.665***	-0.631***	0.423**
	p-value	0.964	<.001	<.001	<.001	0.020

AST= Aspartato Aminotransferase; CT= Colesterol Total; TG= Triglicérides; HU= Unidades Hounsfield; Subc= Subcarapacial. Correlação significativa: *Fraca; **Moderada; ***Forte; ****Muito forte.

TABELA 7: Matriz de Correlação Histopatológico Hepático e Bioquímica sérica dos cães.

		AST	PT	Alb	Glob	Ca	Fos	CT	TG	Amilase
Grau Vacuolização	Rho de Spearman	0.319	0.460**	-0.257	-0.464**	-0.486**	-0.308	0.126	-0.059	0.056
	p-value	0.027	0.001	0.078	<.001	<.001	0.033	0.394	0.689	0.707
Grau Balonização	Rho de Spearman	-0.319	-0.460**	0.257	0.464**	0.486**	0.308	-0.126	0.059	-0.056
	p-value	0.027	0.001	0.078	<.001	<.001	0.033	0.394	0.689	0.707
Inflamação Parênquima	Rho de Spearman	0.144	0.041	0.069	0.001	0.004	0.166	-0.306	-0.436**	-0.000
	p-value	0.329	0.782	0.640	0.995	0.979	0.259	0.034	0.002	0.998
Inflamação Portal	Rho de Spearman	-0.364	-0.223	-0.075	0.127	0.209	0.248	0.059	0.344	-0.086
	p-value	0.011	0.127	0.611	0.389	0.155	0.089	0.691	0.017	0.562
Hepatite	Rho de Spearman	-0.137	0.095	-0.170	-0.190	-0.190	-0.200	0.221	0.221	-0.053
	p-value	0.353	0.521	0.249	0.196	0.196	0.172	0.131	0.131	0.722
Colangite	Rho de Spearman	-0.304	-0.216	-0.052	0.072	0.223	0.301	-0.275	0.126	0.034
	p-value	0.036	0.141	0.726	0.625	0.128	0.038	0.059	0.395	0.816
Necrose	Rho de Spearman	-0.074	0.011	0.138	0.032	-0.032	0.053	0.032	0.074	-0.095
	p-value	0.618	0.943	0.350	0.831	0.831	0.722	0.831	0.618	0.521
Melanomacrófagos	Rho de Spearman	-0.015	0.196	-0.114	-0.030	-0.075	0.030	0.030	-0.030	-0.098
	p-value	0.919	0.182	0.442	0.839	0.610	0.839	0.839	0.839	0.508
Fibrose	Rho de Spearman	0.364	0.305	-0.054	-0.173	-0.088	-0.364	0.113	-0.060	0.088
	p-value	0.011	0.035	0.718	0.239	0.552	0.011	0.444	0.685	0.552
Glicogênio	Rho de Spearman	0.064	-0.189	0.360	0.201	0.131	0.159	-0.437**	-0.198	-0.324
	p-value	0.668	0.198	0.012	0.170	0.376	0.279	0.002	0.176	0.024

No que se refere aos testes de correlação entre TC e histopatológico hepático, foram observadas fortes correlações entre grau de balonização ($P < 0,001$; $Rho = -0,511$), e conseqüentemente de modo inverso grau de vacuolização ($P < 0,001$; $Rho = 0,511$), com a porcentagem de gordura subcarapacial, sugerindo que animais que tiveram maiores depósitos gordurosos, também tiveram maior balonização do tecido hepático.

Ainda, cárgados com maior grau de inflamação portal tiveram menores valores de HU hepático ($P = 0,002$; $Rho = -0,432$). A mesma relação foi encontrada para colangite e HU, porém numa correlação mais fraca ($P = 0,036$; $Rho = -0,304$) (Tabela 8).

TABELA 8: Matriz de correlação Histopatológico e Tomografia Hepática.

		Área hepática	HU hepático	% Gordura Subcarapacial
Grau Vacuolização	Rho de Spearman	0.385*	-0.044	-0.511**
	p-value	0.007	0.764	<.001
Grau Balonização	Rho de Spearman	-0.385*	0.044	0.511**
	p-value	0.007	0.764	<.001
Inflamação Parênquima	Rho de Spearman	-0.146	0.079	-0.021
	p-value	0.323	0.596	0.890
Inflamação portal	Rho de Spearman	0.032	-0.432**	0.226
	p-value	0.830	0.002	0.122
Hepatite	Rho de Spearman	0.221	-0.137	-0.221
	p-value	0.131	0.353	0.131
Colangite	Rho de Spearman	-0.175	-0.304*	0.175
	p-value	0.235	0.036	0.235
Necrose	Rho de Spearman	0.137	0.200	-0.032
	p-value	0.353	0.172	0.831
Melanomacrófagos	Rho de Spearman	0.151	0.045	-0.090
	p-value	0.307	0.760	0.541
Fibrose	Rho de Spearman	0.062	-0.031	-0.101
	p-value	0.675	0.834	0.494
Glicogênio	Rho de Spearman	-0.042	0.299	0.085
	p-value	0.778	0.039	0.565

Correlação significativa: *Fraca; **Moderada; ***Forte; ****Muito forte.

4.3 JABUTIS-PIRANGA (*Chelonoidis carbonaria*)

Foram avaliados ao todo vinte jabutis, sendo sete fêmeas e treze machos, todos adultos, acima de 2 kg.

A primeira avaliação ocorreu na estação seca (inverno) nos meses de junho e julho de 2024. A segunda coleta ocorreu no período chuvoso (verão) no mês de fevereiro de 2025.

4.3.1 MORFOMETRIA E MASSA CORPÓREA

Todos os animais mantiveram ganho de peso durante o período de observação, entre os anos 2023 e 2025. Apesar disso, não houve diferença estatística significativa da massa corpórea ou da morfometria dos animais nos dois períodos (Anexo 2).

Diferentemente dos cágados, os jabutis não demonstraram diferenças na morfometria e peso entre machos e fêmeas no grupo avaliado. Apesar de Pritchard e Trebbau (1984), Moskovits (1988) e Ernest e Leuteritz (1999) terem relatado que machos são maiores que fêmeas nessa espécie, estudos mais recentes, como o de Silva *et al.* (2011) e Barros *et al.* (2012) não encontraram diferenças significativas nessas medidas entre os dois sexos.

A variação da massa corpórea entre os períodos encontra-se destacada na Figura 12, sendo que, em geral, a massa corpórea das fêmeas variou de 2 kg a 8,5 kg (média de 4,5 kg), enquanto nos machos o menor exemplar pesou 1,8 kg e o maior 9,1 kg (média de 4,1 kg). Durante o período de avaliação, as fêmeas apresentaram diferenças na massa corpórea entre os meses de agosto de 2024 e fevereiro de 2025 (*One-way ANOVA* seguido de teste de Tukey; $P=0,0244$). É possível que essa variação esteja associada à reprodução e ao maior peso dos ovos no mês de fevereiro, quando foi observado grande número de posturas.

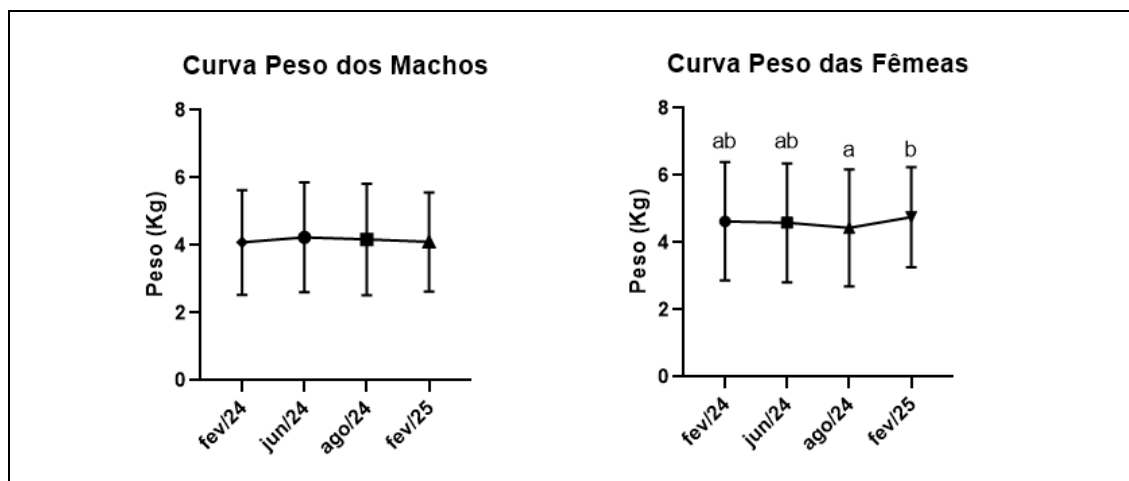


FIGURA 12: Gráfico de variação da massa corpórea de Jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) durante o período de inverno e verão.

4.3.2 HEMOGRAMA E BIOQUÍMICO

Para ambos os sexos, a comparação entre os períodos apontou valores significativamente maiores no verão para leucócitos (fêmeas $P = 0,0039$ e machos $P = 0,0013$), linfócitos (fêmeas $P = 0,0311$ e machos $P = 0,0202$) e monócitos (fêmeas $P = 0,0039$ e machos $P < 0,001$). Machos ainda apresentaram maiores valores para CHCM ($P = 0,0043$) e heterófilos ($P = 0,0348$) nesse período, enquanto as fêmeas tiveram maior valor de proteína plasmática total ($P = 0,0030$).

Os demais parâmetros hematológicos não apresentaram diferenças estatísticas, demonstrando que a sazonalidade não influenciou nesses dados.

A avaliação entre sexos (machos x fêmeas) demonstrou maiores valores de hemoglobina ($P = 0,0002$) e hematócrito ($P < 0,0001$) nos machos, enquanto as fêmeas apresentaram maiores valores de leucócitos ($P = 0,0347$) e PPT ($P = 0,0032$).

Maiores valores de hemoglobina e hematócrito para machos também foram observados nos estudos de Andreani *et al.* (2014) com *Testudo hermanni* e no estudo de Bergamini *et al.* (2017) com *Chelonoidis carbonaria*.

A maioria das pesquisas com espécies do gênero *Chelonoidis* sp. não identificaram diferença entre os sexos na avaliação do leucograma (BERGAMINI, 2016; LEWBART *et al.*, 2018; BERG *et al.*, 2021; CORREIA *et al.*, 2025).

Os valores hematológicos observados para o grupo dos jabutis são apresentados na Tabela 9 e coincidem com os dados descritos por Bergamini (2016), Berg *et al.* (2021) e Correia *et al.* (2025).

TABELA 9: Valores hematológicos de jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) machos e fêmeas adultos, avaliados em duas estações do ano após jejum de 48h.

	Verão				Inverno			
	Fêmeas		Machos		Fêmeas		Machos	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	0,4	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,5	0,1
Hemoglobina (g/dL)	7,3	0,9	9,0	1,7	7,0	1,0	9,2	1,4
Hematócrito (%)	23,4	2,8	29,4	3,9	21,4	2,9	27,8	4,2
VCM (fL)	615,6	111,3	702	228	556,2	140,9	571,0	112,3
CHCM (%)	31,5	3,6	30,6	3,3	32,5	2,0	33,2	2,1
PPT (g/dL)	5,0	1,6	4,9	0,7	3,7	1,1	4,8	0,7
Leucócitos (unidades/μL)	8007	2080	6270	5436	3777	1622	3196	1796
Heterófilos %	52,0	24,7	57,4	18,2	63,1	9,9	58,1	12,5
Heterófilos (unidades/μL)	4072	1895	3814	4486	2470	1352	1953	1370
Linfócitos %	30,1	22,7	24,8	17,9	17,1	5,8	18,2	8,2
Linfócitos (unidades/μL)	2475	2110	1422	1229	596	200	564	391
Eosinófilos (%)	8,8	9,2	6,4	11,5	10,4	7,2	12,8	9,8
Eosinófilos (unidades/μL)	810	1012	452	856	386	274	391	351
Basófilos (%)	0,2	0,7	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Basófilos (unidades/μL)	16	47	12	37	0,0	0,0	0,0	0,0
Azurófilos (%)	5,2	6,0	4,9	5,9	8,8	6,3	10,1	8,5
Azurófilos (unidades/μL)	395	467	248	232	304	210	272	257
Monócitos (%)	5,0	3,8	5,2	4,3	0,4	0,5	0,8	1,3
Monócitos (unidades/μL)	392	309	257	239	16,4	25,1	17,5	28,2

*VCM= Volume Corpuscular Médio; CHCM=Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; PPT= Proteína Plasmática Total;

Na estação seca, três animais apresentaram leucocitose moderada (11840 a 23770 unidades/μL) por heterofilia no primeiro animal (19000 unidades/μL) ou linfocitose e azurofilia no segundo (7153 e 1586 unidades/μL, respectivamente) e por eosinofilia no terceiro jabuti (3300 unidades/μL), porém sem alterações em exames bioquímicos e sem alterações clínicas evidentes. O hemograma se normalizou na estação seguinte. Os demais valores hematológicos encontram-se dentro dos valores de referência citados por Carpenter *et al.* (2019).

Os valores da bioquímica sérica estão reportados nas Tabelas 10 e 12. Durante o período úmido (verão), ambos os sexos apresentaram valores significativamente mais elevados para PT ($P=0,0114$), albumina ($P=0,0140$) e globulina ($P=0,0275$). O estudo de Adamovicz *et al.* (2022) com *Tarrapene carolina* e *Tarrapene ornata* também encontrou

resultado semelhante, valores de PT e Albumina maiores no verão, sugerindo que o aumento do metabolismo proteico possa estar associado a maior disponibilidade de recursos, ou aos fatores ambientais, onde a elevação da temperatura se relaciona com maior taxa metabólica dos animais e a preparação para a reprodução.

Ainda, Triglicérides ($P<0,0001$), Cálcio ($P<0,0001$) e Amilase ($P=0,0180$) tiveram valores significativamente mais elevados no verão. Além dos aspectos reprodutivos, com o aumento da taxa metabólica, há uma tendência ao maior consumo alimentar, que pode estar correlacionado ao aumento da amilase (GOLDBERG *et al.*, 2011).

Bergamini (2016) avaliou um grupo de jabutis-piranga adultos, machos e fêmeas, durante todas as estações do ano e avaliou a interferência da sazonalidade e do sexo nos parâmetros bioquímicos desses animais. Ele reportou em seu estudo que as fêmeas mantiveram valores elevados de PT apenas no verão e relacionou esse fato ao aumento da taxa metabólica proteica como um mecanismo de preparação para a reprodução. Nesse mesmo estudo, Bergamini encontrou valores mais elevados de colesterol, triglicérides, cálcio e fósforo para as fêmeas ao longo de todo o ano, sinalizando a constância da vitelogênese para essa espécie.

No presente estudo, ao comparar os resultados bioquímicos entre os sexos, houve diferença estatística nos valores de triglicérides ($P<0,0001$), colesterol ($P=0,0008$), cálcio ($P=0,0007$) e fósforo ($P=0,0021$), nos quais as fêmeas apresentaram quantidades superiores destas enzimas em comparação aos machos, em ambos os períodos avaliados (Figura 13).

As concentrações plasmáticas de cálcio, fósforo e constituintes lipídicos são mais elevadas nas fêmeas de diversas espécies de testudines, o que é consistente com o processo de formação de ovos (GOLDBERG *et al.*, 2011; CAMPBELL, 2012; LEINEWEBER, 2020; ADAMOVICZ *et al.*, 2022; CLARIZIO *et al.*, 2022).

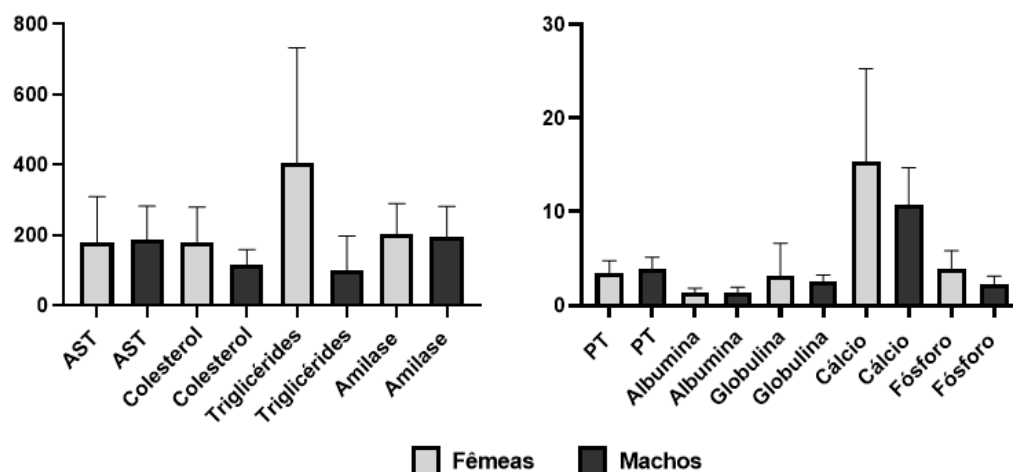


FIGURA 13: Influência do sexo nas médias dos valores da bioquímica sérica de Jabutis-piranga.

TABELA 10: Valores bioquímicos de jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) machos e fêmeas adultos em dois períodos do ano, após jejum de 48h.

	Fêmeas (n=9)				Machos (n=17)			
	Verão		Inverno		Verão		Inverno	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
AST (UI/L)	191,9	120,2	166,6	145,5	195,2	61,1	173,2	125,5
PT (g/dL)	4,1	1,0	2,9	1,3	4,4	0,6	3,4	1,5
Albumina (g/dL)	1,5	0,4	1,0	0,6	1,6	0,3	1,2	0,7
Globulina (g/dL)	4,3	4,8	1,9	0,8	2,8	0,4	2,2	0,9
Colesterol (mg/dL)	214	106	147	85	116	32	116	55
Triglicérides (mg/dL)	538	381	272	210	48	48	157	111
Amilase (UI/L)	238	67	169	92	210	62	178	109
Cálcio (mg/dL)	19,1	11,7	11,7	6,4	13,2	1,1	8,3	4,4
Fósforo (mg/dL)	3,9	2,1	3,8	2,0	2,5	0,4	2,1	1,1

*AST: Aspartato Aminotransferase; PT: Proteína Total;

Os resultados das análises de correlação não diferiram de outros estudos prévios, ou mesmo da avaliação realizada com o grupo dos cágados, de forma que foram observadas fortes correlações positivas entre colesterol e triglicérides ($R=0,688$; $P<0,0001$); PT, albumina e globulina ($Rho=0,712$, $0,879$ e $0,907$; $P<0,0001$), assim como cálcio e fósforo ($Rho=0,554$; $P<0,0001$). A enzima AST teve moderada correlação apenas com as proteínas, albumina ($Rho=0,420$; $P=0,021$) e globulina ($Rho=0,566$; $P=0,001$).

Demais correlações referentes ao exame bioquímico podem ser apreciadas na tabela 11.

TABELA 11: Correlação de *Spearman* para variáveis bioquímicas de Jabutis-piranga.

		AST	PT	Alb	Glob	CT	TG	Amilase	Cálcio
	Valor P								
PT	Rho de	0,0252							
	Spearman	0,310							
	Valor P								
Alb	Rho de	0,0758	0,0000						
	Spearman	0,248	0,907***						
	Valor P								
Glob	Rho de	0,0129	0,0000	0,0000					
	Spearman	0,343	0,879***	0,712**					
	Valor P								
CT	Rho de	0,0591	0,0129	0,0100	0,0119				
	Spearman	0,264	0,342	0,354	0,346				
	Valor P								
TG	Rho de	0,2750	0,7536	0,5768	0,5220	0,0000			
	Spearman	0,154	0,045	0,079	0,091	0,688**			
	Valor P								
Amilase	Rho de	0,1511	0,0003	0,0001	0,0003	0,0365	0,4534		
	Spearman	0,202	0,486*	0,512*	0,478*	0,291	0,106		
	Valor P								
Cálcio	Rho de	0,2596	0,0051	0,0004	0,0057	0,0055	0,0811	0,0017	
	Spearman	0,159	0,383	0,477*	0,379	0,380	0,244	0,424*	
	Valor P								
Fósforo	Rho de	0,0016	0,0304	0,032	0,0057	0,0000	0,0001	0,0169	0,0000
	Spearman	0,428*	0,301	0,298	0,378	0,647**	0,513*	0,330	0,554*
	Valor P								

Alb=Albumina; Glob=Globulina; CT=Coolesterol Total; TG=Triglicérides; AST=Aspartato Aminotransferase. Valores significativos em negrito. Correlação: *moderada, **forte e ***muito forte.

4.3.3 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

Após avaliação hematológica e bioquímica sérica, o exame tomográfico foi realizado em 26 Jabutis-piranga, 17 machos e nove fêmeas. Os valores descritivos sobre todas as análises feitas na TC encontram-se na Tabela 12.

TABELA 12: Estatística descritiva das variáveis avaliadas na tomografia computadorizada de Jabutis-piranga, em dois períodos de observação.

		Razão:		HU Hepático			% Gordura	
		HH/HC	LD	LE	Média	Subcarapacial	Intra-hepática	
Fêmeas	Inverno	Média	0,51	12	16	14	7,32	19,4
		Menor	0,43	-29	-25	-27	2,15	0
		Maior	0,66	46	48	47	22,74	75,5
	Verão	Média	0,51	-9	-6	-7	10,86	33,8
		Menor	0,41	-39	-42	-40	2,21	0
		Maior	0,61	21	37	29	21,70	82
M	Inverno	Média	0,43	27	34	31	4,12	9,7

	Menor	0,31	-21	-22	-21	0,07	0
	Maior	0,53	61	68	64	17,25	64,5
Verão	Média	0,32	22	35	28	3,75 (0)	8,6
	Menor	0,25	-14	-13	-13	0,17	0
	Maior	0,44	65	82	73	13,54	52,9

*HH: Área Hepática; HC: Área total da Carapaça; HU: Unidades Hounsfield; LD: Lobo hepático direito; LE: Lobo hepático esquerdo.

O parênquima hepático foi avaliado com medidas em Unidades Hounsfield (HU) e tamanho proporcional em relação a carapaça. Diferentemente dos cágados, as médias de HU obtidas em cada lobo hepático (direito e esquerdo) tiveram diferença significativa nos machos de Jabutis ($P < 0,0001$) (Figura 14). Desta forma, apesar das avaliações em relação a influência do sexo e da sazonalidade serem calculadas utilizando a média geral de HU hepático, as correlações com o exame histopatológico serão analisadas separadamente para cada lobo no capítulo 4.4.

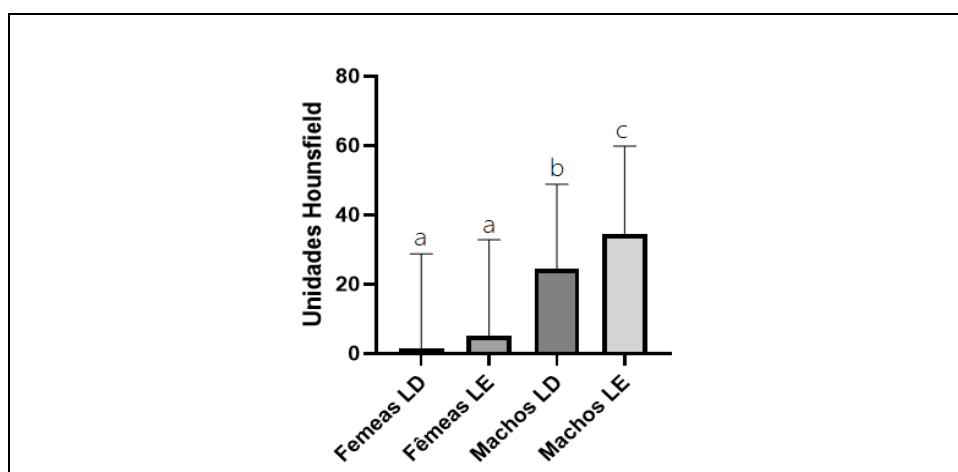


FIGURA 14: Comparação das médias de HU nos lobos hepáticos direito e esquerdo de machos e fêmeas de Jabuti-piranga. * LD: Lobo hepático direito; LE: Lobo hepático esquerdo; HU: Unidades Hounsfield.

Durante o verão, os valores de HU foram menores ($P = 0,0158$) para a população estudada, sendo essa diferença significativa para as fêmeas ($P = 0,0051$), as quais apresentaram média de HU hepático -7 no verão, contra 14 HU no inverno. Machos não apresentaram diferença de HU hepático entre os dois períodos avaliados (média de 31 HU para o inverno e 28 HU no verão) (Figura 16).

Para realizar as aferições em HU, a atenuação dos tecidos é comparada com a da água, considerada zero (HATHCOCK e STICKLE, 1993). Sabe-se que a gordura em geral

apresenta atenuação abaixo da água, muitas vezes negativa, de forma que quanto maior acúmulo gorduroso, menor será o valor em HU desse tecido (DUCOMMUN *et al.*, 1979; BYDDER *et al.*, 1981; WALDEN *et al.*, 2022). Dessa forma, por apresentarem valores negativos, a baixa atenuação hepática para as fêmeas no verão pode estar associada ao acúmulo gorduroso nos hepatócitos e à dinâmica metabólica associada à reprodução.

Em um estudo da medicina realizado por Starekova e Reeder (2020), após estimar o porcentual de gordura hepática por ressonância magnética (MRI-PDF), encontraram uma relação entre a redução do HU e o aumento da gordura hepática, em que fígados com 65 HU, 35 HU, 12 HU e -8 HU equivaleram a 0,5%, 28%, 31% e 43% de gordura respectivamente.

Na medicina tem-se como um referencial que fígados abaixo de 40 HU estão associados a esteatose hepática (JIRAPATNAKUL *et al.*, 2020). No estudo de Marchiori *et al.* (2015) foram utilizadas como ponto de corte atenuações iguais ou abaixo de 20 HU para caracterizar lipidose hepática em Jabutis-piranga, porém a avaliação histopatológica não foi conduzida nesse trabalho, a qual seria necessária para validar essa afirmação.

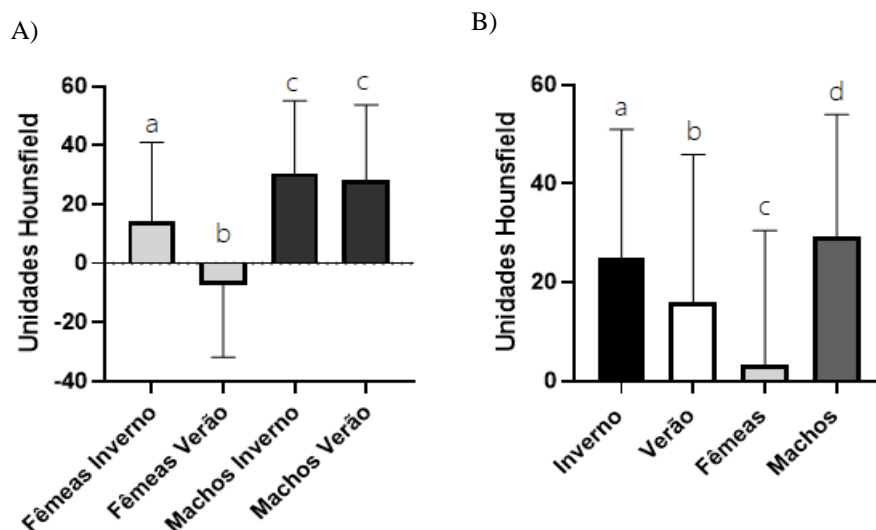


FIGURA 15: Observe o efeito da sazonalidade e do sexo no HU hepático de Jabutis-piranga. A) Influência da sazonalidade nos machos ($b \neq c$) e nas fêmeas ($a = a$), separadamente em cada estação. B) Avaliação geral do grupo de jabutis demonstrando a relação da sazonalidade ($a \neq b$) e do sexo ($c \neq d$).

Além da influência na atenuação do tecido, a presença de lipídeos, água, glicogênio ou mesmo fibrose pode influenciar o tamanho da víscera, dessa forma, com o intuito de avaliar essa variação nas duas estações do ano, a medida da área hepática no plano transversal foi dividida pela área total do interior da carapaça no mesmo corte. Esta razão foi utilizada para determinar aproximadamente qual a porcentagem que o fígado ocupa na cavidade celomática neste corte. A média dessa razão foi de 0,41 no verão e 0,47 no inverno, o que significa que o fígado ocupou nesse corte cerca de 41% e 47% da área interna da carapaça, respectivamente. Machos apresentaram maior área no inverno ($P<0,0001$) e Fêmeas apresentaram maiores áreas hepáticas que os machos, em ambas as estações ($P<0,0001$) (Figura 16).

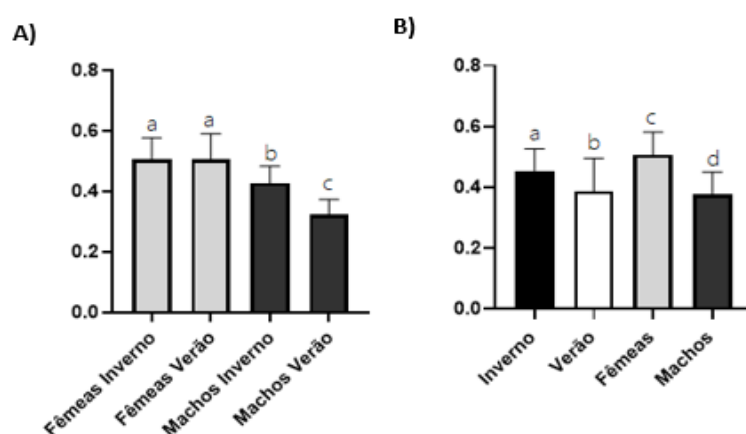


FIGURA 16: Efeito da sazonalidade e do sexo na razão entre a área hepática e a área total da carapaça de Jabutis-piranga. A) Influência da sazonalidade nos machos ($b\neq c$) e nas fêmeas ($a=a$), separadamente em cada estação. B) Avaliação geral do grupo de jabutis demonstrando a relação da sazonalidade ($a\neq b$) e do sexo ($c\neq d$).

Por meio do exame de TC também foi possível avaliar como é a distribuição gordurosa nos Jabutis-piranga e qual a proporção de gordura subcarapacial em relação ao volume da carapaça (% de gordura subcarapacial).

Semelhante aos cágados, a gordura celomática estava distribuída nas áreas próximas à região inguinal estendendo-se para as laterais da parede celomática até a clavícula e no assoalho da cavidade, como mostra a Figura 18. Outros pontos próximos ao coração, ao redor dos folículos ou em alças intestinais também apresentaram níveis de acúmulo gorduroso. Esse padrão difuso de reserva lipídica se aproxima do descrito por Tomovic *et al.* (2020) e Walden (2022).

Ainda foi observada a presença de gordura no interior do tecido hepático dos jabutis, em que 33,3% das fêmeas no inverno e 56% no verão apresentaram acúmulo gorduroso intra-hepático na avaliação pelo Slicer 3D (*threshold* -10 a -100HU). Nos machos, 23,5% e 35,3% dos animais apresentaram acúmulo gorduroso intra-hepático no inverno e verão, respectivamente. A média de acúmulo gorduroso subcarapacial foi significativamente ($P=0,0077$) maior nas fêmeas (mediana de 11%) do que nos machos (mediana de 1,92%) no verão, porém a mesma discrepância não ocorreu no inverno (FIGURA 17).

Vale destacar que o valor médio final do HU hepático é um reflexo da composição bioquímica e estrutural do tecido, portanto, o nível de acúmulo de água, sangue, proteínas, lipídios, glicogênio ou mesmo contraste iodado irá alterar o resultado da atenuação (HATHCOCK e STICKLE, 1993). Sabe-se que a água é utilizada para referência do HU e sua atenuação equivale a zero. Ossos possuem atenuação alta (+1000 HU) e o ar extremamente baixa (-1000 HU) (HATHCOCK e STICKLE, 1993). Em estudos prévios, o glicogênio demonstrou ter atenuação levemente maior que a água e influenciou na elevação do HU em ratos, onde houve aumento de 0,30 HU na atenuação hepática para cada mg de glicogênio (LEANDER et al., 2000). Além disso, a gordura geralmente é apresentada com valores negativos entre -10 e -100 HU. Desta forma, a mensuração da gordura intra-hepática utilizando o software 3D *Slicer* é uma estratégia efetiva para identificação do acúmulo gorduroso no tecido (WALDEN et al., 2022).

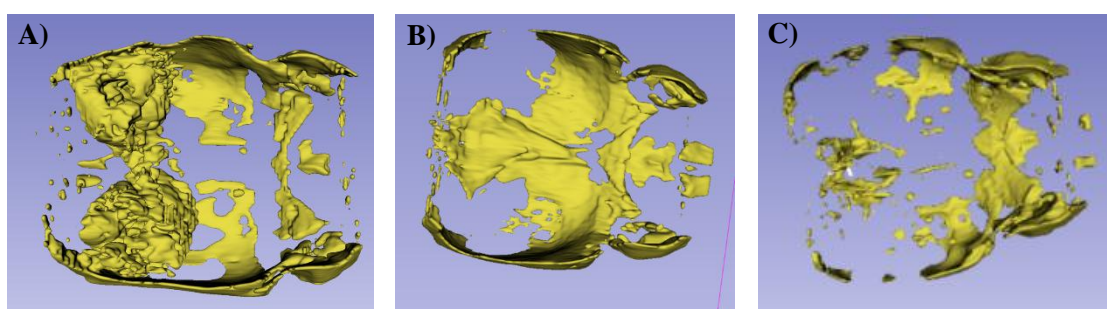


FIGURA 17: Observa-se a diferença de distribuição do acúmulo gorduroso em três fêmeas (A, B e C), onde A) descreve tecido hepático marcado por apresentar HU < -10; B e C) não apresentam quantidades significativas de gordura intra-hepática ao ponto de reduzir a atenuação do tecido.

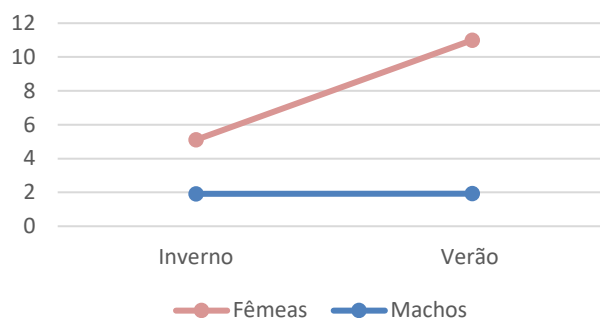


FIGURA 18: Variação do acúmulo gorduroso subcarapacial no inverno e verão para ambos os sexos em Jabutis-Piranga (*Chelonoidis carbonaria*).

Por fim, nas fêmeas de Jabutis, foi ainda avaliada na TC a quantidade e o tamanho de ovos e folículos. Todas as fêmeas apresentaram folículos em diversas fases do desenvolvimento em ambos os períodos, porém a média de folículos foi maior no verão (43 folículos) em comparação com o inverno (29 folículos), $P=0,0117$.

Ao correlacionar as variáveis analisadas na tomografia computadorizada pelo teste de *Spearman*, foi verificada forte correlação negativa entre HU hepático e % de gordura subcarapacial, HU e % de gordura hepática, e relação positiva entre % de gordura subcarapacial e % de gordura hepática. Portanto, quanto maior a porcentagem de gordura na carapaça, maior será a quantidade de gordura no fígado e menor será o HU hepático (Figura 19). Houve ainda moderada correlação entre HU e razão da área hepática com a carapaça, a qual sugere que fígados maiores possuem menores valores de HU (Tabela 13).

TABELA 13: Matriz de correlação entre as variáveis avaliadas na tomografia computadorizada.

Spearman <i>Rho</i> Valor <i>P</i>	Razão AH/AC	HU Hepático	% Gordura Subcarapacial	% Gordura Hepática
HU Hepático	$r_s=-0,4717^{**}$ $P=0,00041$	-	-	-
% Gordura Subcarapacial	$r_s=0,4046^{**}$ $P=0,00293$	$r_s=-0,7662^{***}$ $P<0,0001$	-	-
% Gordura Hepática	$r_s=0,3397^*$ $P=0,01374$	$r_s=-0,822^{****}$ $P<0,0001$	$r_s=0,7075^{****}$ $P<0,0001$	-

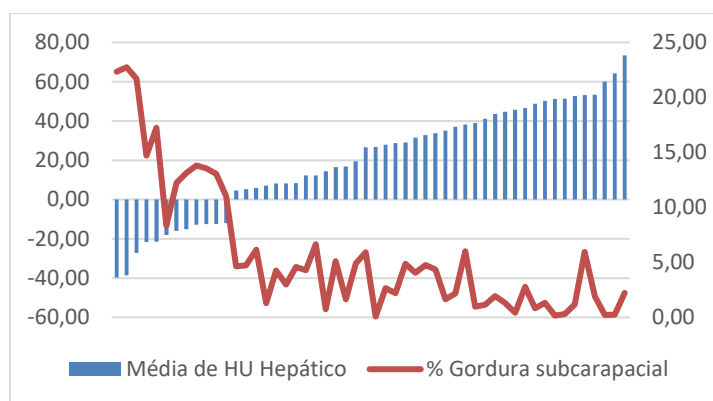
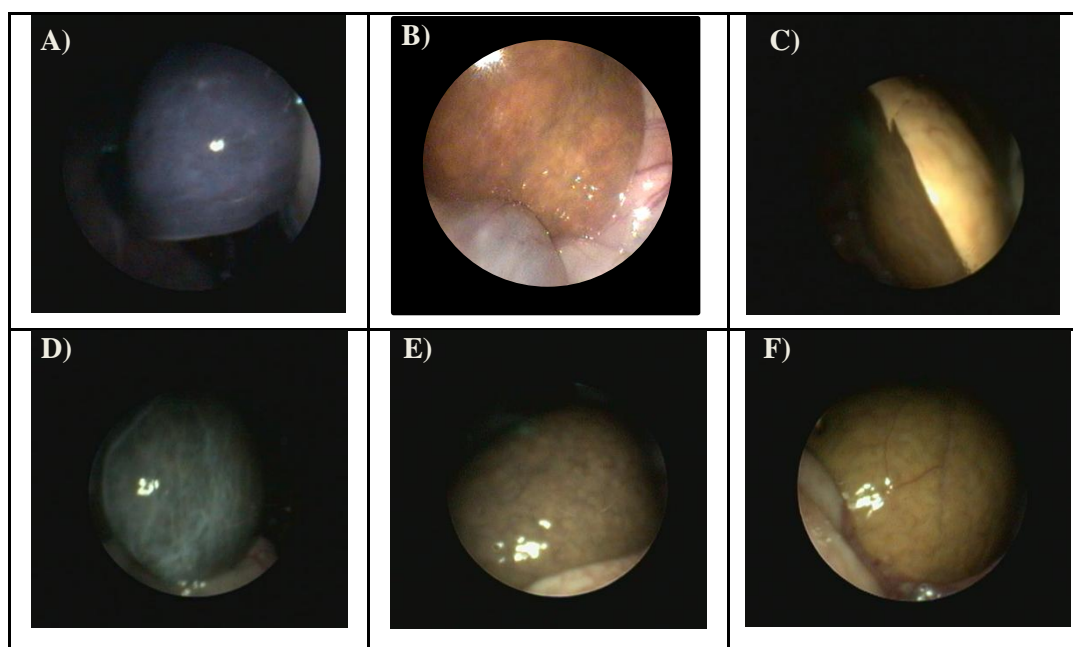


FIGURA 19: Gráfico de combinação entre HU Hepático e % Gordura subcarapacial.

4.3.4 CELIOSCOPIA

Treze machos e sete fêmeas de Jabutis foram anestesiados para celioscopia e coleta de biópsia hepática. Durante o procedimento, foi realizada a avaliação macroscópica do parênquima hepático (Figura 20). As características avaliadas e resultados estão descritos na Tabela 14. Biópsia flutuante se refere aos fragmentos de biópsia que flutuaram ao serem colocados na solução com formol, sugerindo densidade extremamente baixa do tecido coletado.



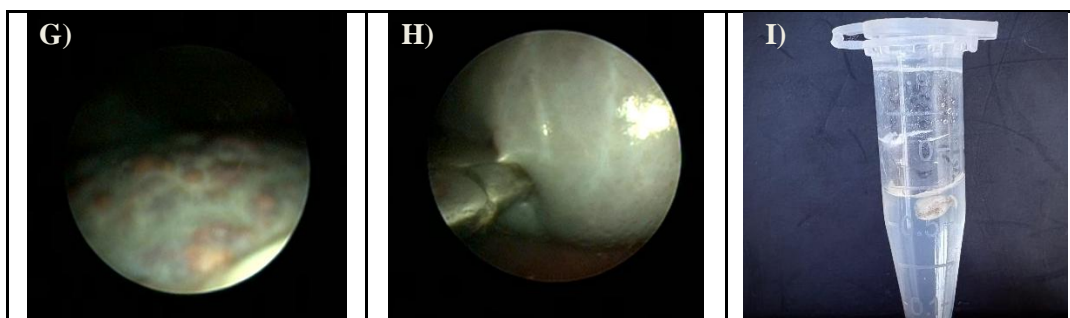


FIGURA 20: Avaliação macroscópica do parênquima hepático de Jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) submetido a celioscopia. Pode-se notar a característica dos bordos A) delgado, B) normal e C) abaulado; a coloração dos bordos D) acinzentada, E) acastanhada e F) amarelo; G) superfície irregular; H) presença de membrana esbranquiçada espessa na superfície hepática; e I) fragmento de biópsia flutuante.

No verão, 75% dos jabutis apresentaram lobos hepáticos de coloração acastanhada ou amarelada, por vezes amarelos em tonalidade mais pálida, com bordos regulares e dimensões preservadas; 20% tinham o fígado castanho acinzentado, bordos delgados e dimensões hepáticas reduzidas e, por fim, 5% apresentaram coloração mais amarelada da víscera, bordos abaulados e dimensões aparentemente estendidas do fígado. Já no inverno, essas porcentagens resultaram em 75%, 5% e 20%, respectivamente.

TABELA 14: Comparação das características hepáticas e celomáticas observadas durante celioscopia de Jabutis-piranga em diferentes estações.

	Inverno		Verão	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
N:	7	13	7	13
Celomite moderada a severa:	14% (1)	15,4% (2)	14% (1)	0
Líquido livre:	100% (7)	69% (9)	100% (7)	15,4% (2)
Coloração Hepática:				
Acinzentada	14,3% (1)	15,4% (2)	28,6% (2)	15,4% (2)
Acastanhado	42,8% (3)	38,5% (5)	14,3% (1)	38,5% (5)
Amarelo	28,6% (2)	30,8% (4)	14,3% (1)	7,7% (1)
Amarelado pálido	28,6% (2)	23% (3)	71,4% (5)	38,5% (5)
Bordos Hepáticos:				
Afilados	14,3% (1)	0%	0%	30,8% (4)
Normais	71,4% (5)	76,9% (10)	85,7% (6)	69,2% (9)
Abaulados	14,3% (1)	23% (3)	14,3% (1)	0%
Superfície Hepática:				
Irregular	14,3% (1)	7,7% (1)	28,6% (2)	0%
Lisa	85,7% (6)	92,3% (12)	71,4% (5)	100% (13)
Membrana esbranquiçada sobre superfície:	28,6% (2)	46,1% (6)	28,6% (2)	30,8% (4)
Biópsia flutuante:	42,8% (3)	7,7% (1)	71,4% (5)	23% (3)

Assim como na celioscopia dos cágados, a presença de líquido livre em celoma foi um achado comum nas fêmeas de jabuti. Porém, três animais no inverno apresentaram celomite marcada por maior quantidade de líquido livre, presença de placas amareladas difusas no celoma e leve aderência das vísceras. Tais características não foram observadas no período seguinte para dois dos animais, o que pode estar associado à resolução da inflamação após administração de antibióticos e anti-inflamatórios após a celioscopia.

4.3.5 HISTOPATOLÓGICO DA BIÓPSIA HEPÁTICA

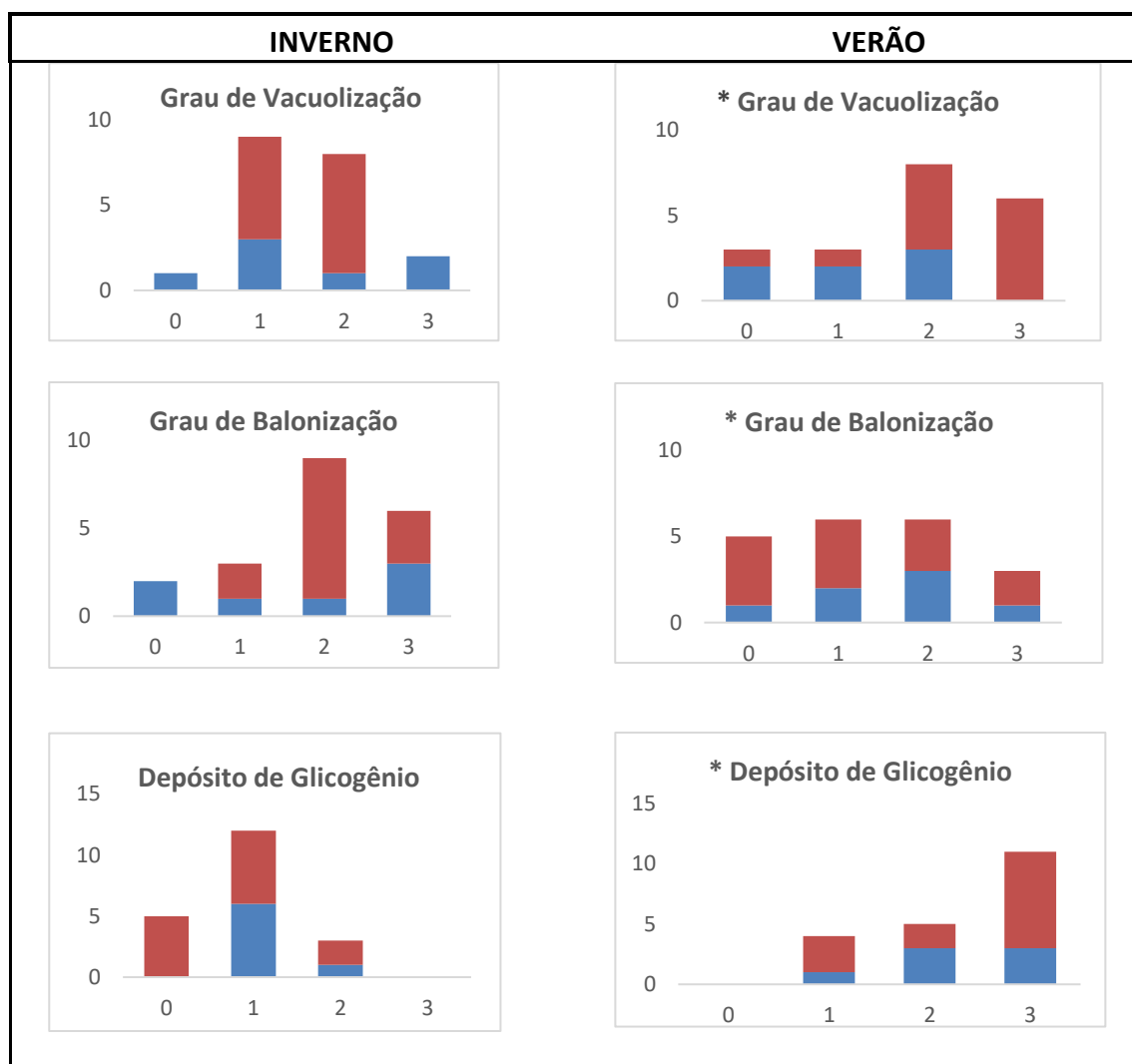
Foi realizada avaliação histológica dos dois lobos hepáticos separadamente (n=80), classificando as lesões em um sistema de pontuação, como descrito na metodologia. Nos dois períodos, foi observada uma alta prevalência de vacuolização e balonização dos hepatócitos, acima de 85% e 80%, respectivamente, além de alta prevalência de depósitos de glicogênio, em que 100% dos animais no período do verão apresentavam algum grau de glicogenose. Inflamação e fibrose também foram comuns na avaliação histológica, com prevalência acima de 60% e 50% e predomínio de infiltrado de heterófilos e linfócitos nos focos inflamatórios.

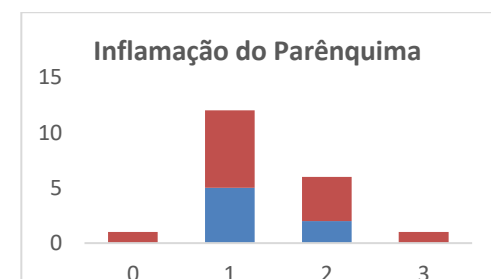
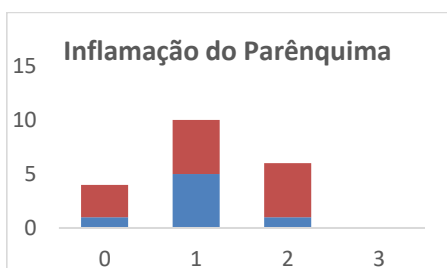
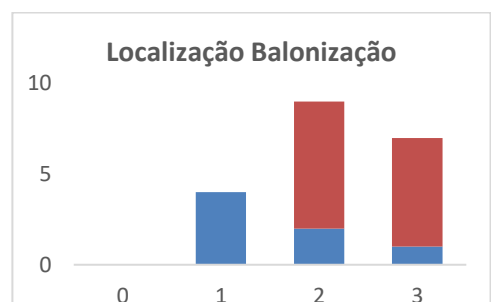
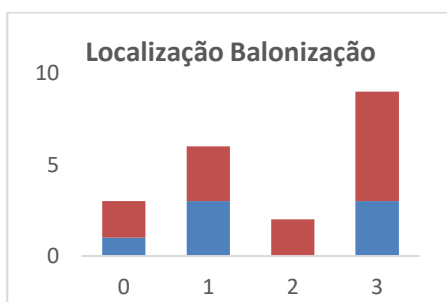
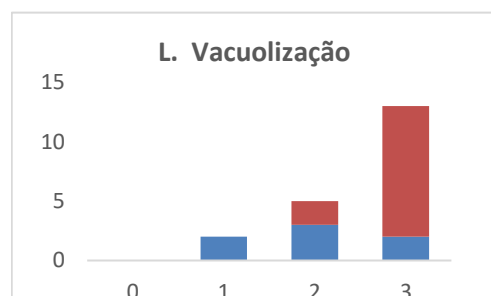
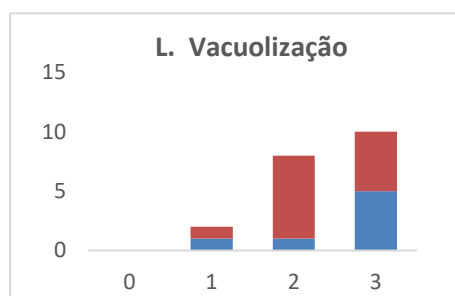
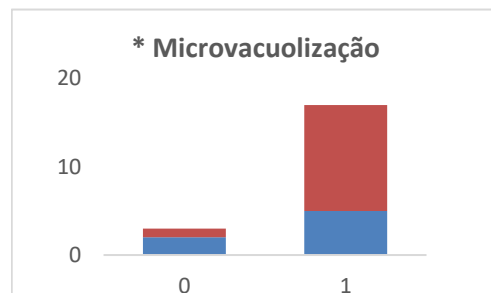
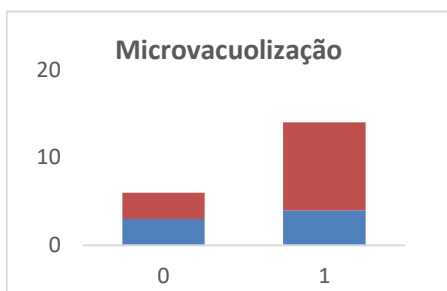
Os resultados da classificação das alterações por escore são apresentados na Figura 21, onde cada gráfico representa a frequência de animais em cada pontuação (0-3) para cada variável, nos diferentes períodos e ainda a diferença entre os sexos (machos representados em azul e fêmeas em vermelho).

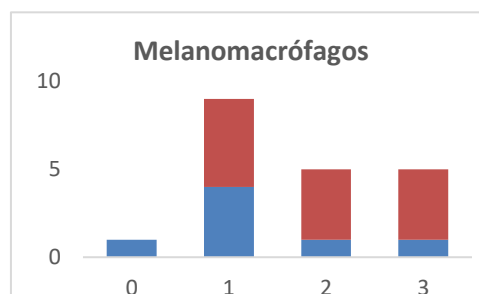
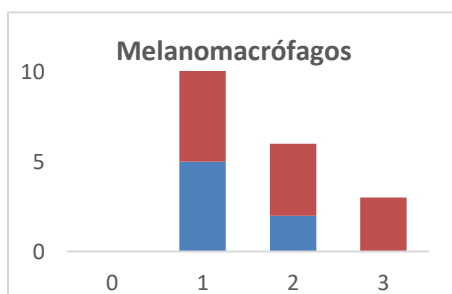
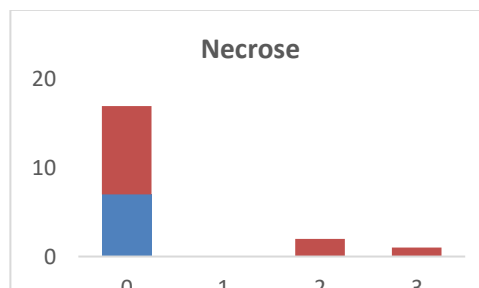
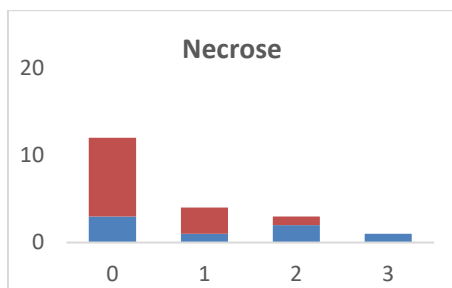
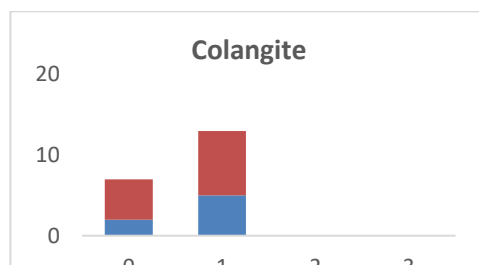
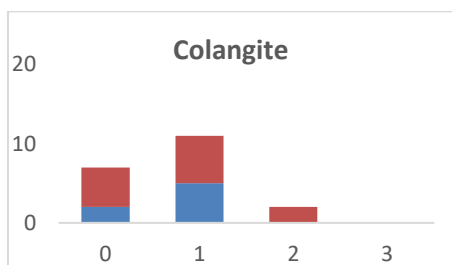
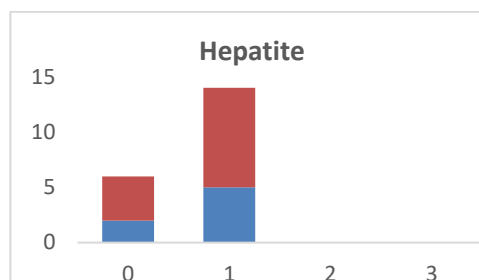
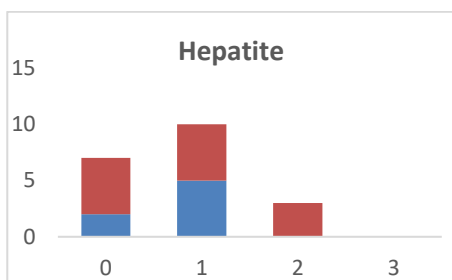
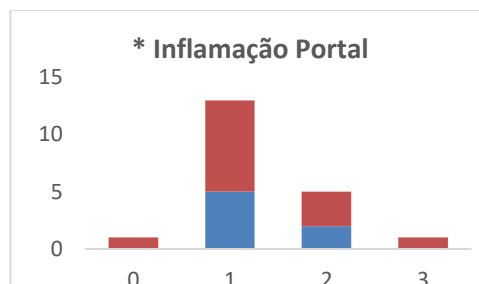
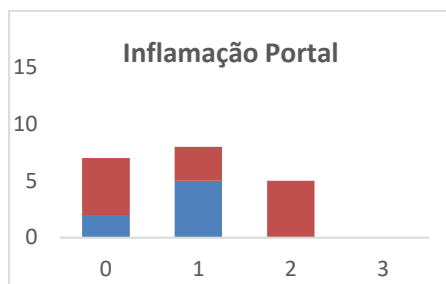
Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os sexos na análise geral dos achados histopatológicos. No entanto, a comparação entre os períodos sazonais revelou mudanças no grau das lesões hepáticas, distintas entre fêmeas e machos.

As fêmeas, durante o inverno, apresentaram moderada intensidade de micro e macro vacuolizações, moderado a alto grau de balonização dos hepatócitos, baixo acúmulo de glicogênio, características inflamatórias leves e moderado a alto grau de fibrose. No verão, houve aumento significativo nos depósitos de glicogênio ($P<0,0001$), elevação da inflamação portal ($P=0,0313$) e da necrose tecidual ($P=0,0078$), com redução no grau de fibrose e ($P=0,0273$).

Nos machos, o inverno foi marcado por grau de vacuolização leve a moderado, porém intensa balonização, menores características inflamatórias, porém moderada presença de necrose tecidual e depósitos de glicogênio. As mudanças significativas para o verão incluíram graus mais elevados de macrovacuolização ($P=0,0358$), microvacuolização ($P<0,0001$), acúmulo de glicogênio ($P < 0,0001$) e fibrose ($P < 0,001$), com redução da balonização hepatocelular ($P=0,0014$).







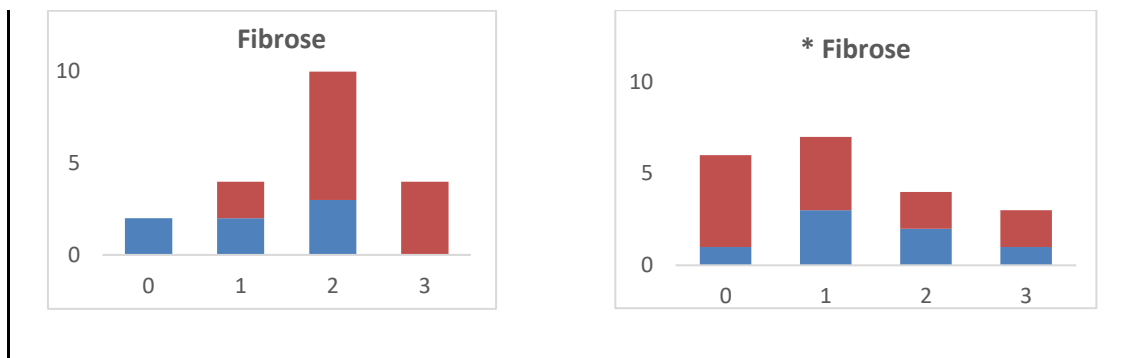
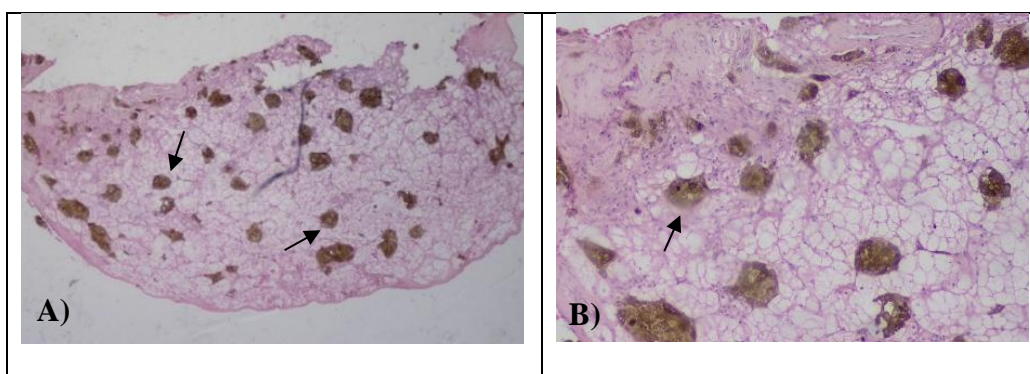


FIGURA 21: Análise por escore de lesões histopatológicas do tecido hepático de Jabuti-piranga em diferentes estações. Fêmeas em vermelho e machos em azul. *Diferença estatística relevante entre os períodos.

No grupo dos jabutis avaliados, não foi possível identificar nenhum parênquima hepático com a arquitetura preservada. Todas as amostras hepáticas apresentavam alterações histopatológicas importantes, incluindo diferentes intensidades de degeneração vacuolar intracitoplasmática dos hepatócitos, associada ou não à glicogenose. As principais alterações estão exemplificadas na Figura 22, na qual cortes histológicos do mesmo animal são apresentados em técnicas histoquímicas diferentes. Nas lâminas coradas em H&E (A e B) é possível observar as características morfológicas dos vacúolos e balonização dos hepatócitos, além de moderada quantidade de melanomacrófagos (seta). Na técnica por PAS (C e D), a deposição do glicogênio é evidenciada pela coloração mais magenta no interior do citoplasma dos hepatócitos. E por fim, a lâmina corada com Tricômico de Masson evidencia em azul a fibrose na região perisinusoidal e periportal (E e F).



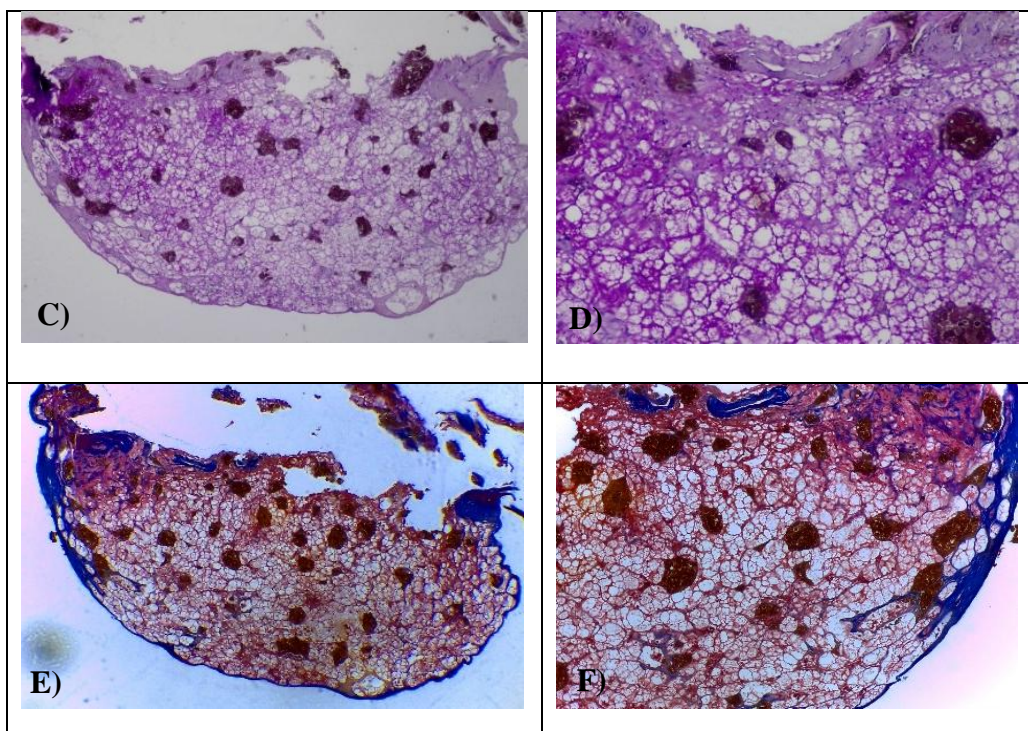


FIGURA 22: Fotomicrografias da Análise Histológica do tecido hepático dos Jabutis-piranga em diferentes técnicas histoquímicas.

Fragmento de biópsia hepática corados em: A e B) H&E, aumento de 40x e 100x, respectivamente, características morfológicas dos vacúolos, balonização dos hepatócitos e moderada quantidade de melanomacrófagos (seta); C e D) PAS, aumento de 40x e 100x, deposição do glicogênio evidenciada pela coloração mais magenta no interior do citoplasma dos hepatócitos; E e F) Tricômico de Masson, 40x e 100, destacando alta quantidade de fibrose.

À medida que o grau das alterações histológicas aumenta, perde-se a definição morfológica dos hepatócitos, dificultando a distinção entre balonização e vacuolização do tipo macrovesicular (LACKNER, 2011; LI *et al.*, 2023). No grupo avaliado, o avançado grau de alterações degenerativas, aliado à ausência de técnicas e colorações histoquímicas específicas para lipídeos, impossibilitou a diferenciação precisa do conteúdo dos vacúolos (se lipídeo, glicogênio ou água). Conseqüentemente, não foi possível realizar a quantificação do acúmulo lipídico hepático por meio do software ImageJ®.

O elevado grau de glicogenose não exclui a possibilidade de ocorrer acúmulo lipídico concomitante. Xiang e Peichao (1990), por exemplo, descrevem numerosas vacuolizações lipídicas e de glicogênio nos hepatócitos de geckos no período fora da hibernação. Da mesma forma, De Souza *et al.* (2004) destacaram a importância do fígado como órgão central no armazenamento de energia em lagartos teiús (*Tupinambis*

merianae), que apresentaram grande acúmulo de glicogênio e lipídios no tecido hepático no período que antecedeu a dormência.

Em outro estudo, com a tartaruga *Phrynops hilarii*, foi observado que após um período de jejum, as taxas de síntese de glicogênio foram superiores às de incorporação de glicose em lipídios, indicando que o glicogênio hepático foi priorizado e, portanto, é uma reserva energética vital para a espécie (SILVA e MIGLIORINI, 1990). De maneira semelhante, em tartarugas *Kinosternon scorpioides*, tanto os lipídios quanto o glicogênio hepático foram mobilizados durante um jejum prolongado, com perda evidente de glicogênio hepático (mas não muscular), especialmente no início do jejum (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Esse padrão indica que o organismo prioriza o uso hepático do glicogênio para manter a homeostase energética.

Em estudo experimental com *Chelonoidis carbonaria*, Di Santo (2021) avaliou a influência de três dietas (Amido, Gordura e Controle) nas características hepáticas. Grande parte do extrato etéreo presente na dieta rica em gordura foi eliminada nas fezes, sugerindo uma baixa digestibilidade e absorção de lipídeos pela espécie. Em contrapartida, o amido apresentou digestibilidade superior a 99%, destacando-se como o principal substrato energético de alta disponibilidade para os jabutis. O excesso de glicose resultante da digestão do amido pode, então, ser armazenado na forma de glicogênio ou convertido em lipídios por meio da lipogênese.

Dessa forma, o elevado grau de acúmulo de glicogênio nos hepatócitos dos jabutis do presente estudo, observado principalmente no verão, pode estar relacionado à ingestão de dietas ricas em frutas e, conseqüentemente, em carboidratos como a frutose. Essa glicose, por sua vez, pode ser armazenada sob a forma de glicogênio hepático ou convertida, por meio da lipogênese, em ácidos graxos e triglicerídeos, o que também pode justificar o elevado grau de vacuolização e balonização dos tecidos hepáticos.

Uma análise separada dos animais com alto grau de depósitos de glicogênio (acima de 66%) foi realizada, em que 18% das 80 amostras foram consideradas positivas para glicogenose, sendo 61% machos e 39% fêmeas. A avaliação histológica desse grupo revelou prevalência de 100% microvacuolização, 77,8% de macro vacuolização em grau moderado a severo, 49,9% inflamação portal e 44% de fibrose em escala moderada a severa. Ao comparar este grupo com as demais amostras, foi observado maior grau de

microvacuolização ($P < 0,0001$) e inflamação portal ($P = 0,0066$), além de menor grau de balonização ($P < 0,0001$) para o grupo glicogenose. Sugere-se a partir desse dado que a balonização do tecido possa estar mais associada ao acúmulo lipídico do que a glicogenose. Além disso, a média de HU hepático para esses animais foi de 18,8, demonstrando que a glicogenose também pode culminar em menores valores de atenuação, uma vez que o HU do glicogênio se aproxima do HU da água (zero), sendo um fator importante a ser considerado na avaliação tomográfica.

4.3.6 TESTES DE CORRELAÇÃO

Foi verificada a existência de correlação entre as três metodologias de avaliação do tecido hepático: bioquímica sérica (AST, PT, Albumina, Globulina, Triglicérides, Colesterol e Cálcio), tomografia computadorizada (HU hepático e porcentagem de gordura subcarapacial) e histologia hepática. Para a realização dos cálculos de correlação e regressão, foi utilizado o software JAMOV[®] (THE JAMOV PROJECT, 2024).

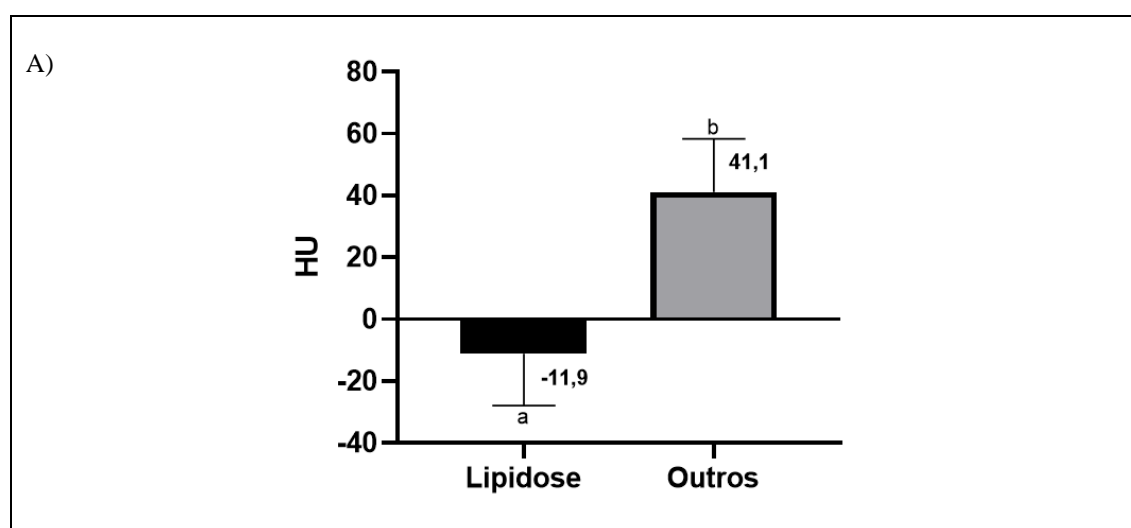
Ao correlacionar o exame bioquímico (AST, triglicérides e colesterol) com a tomografia computadorizada (HU, % Área Hepática e % Gordura), foi observada moderada correlação positiva entre % Área Hepática e Colesterol ($Rho = 0,450$; $P = 0,013$), e % área hepática e Triglicérides ($Rho = 0,472$; $P = 0,008$); Além de forte correlação positiva entre % Gordura Subcarapacial e Triglicérides ($Rho = 0,665$; $P < 0,001$) e % Gordura Subcarapacial e Colesterol ($Rho = 0,649$; $P < 0,001$). Demais correlações não foram significativas.

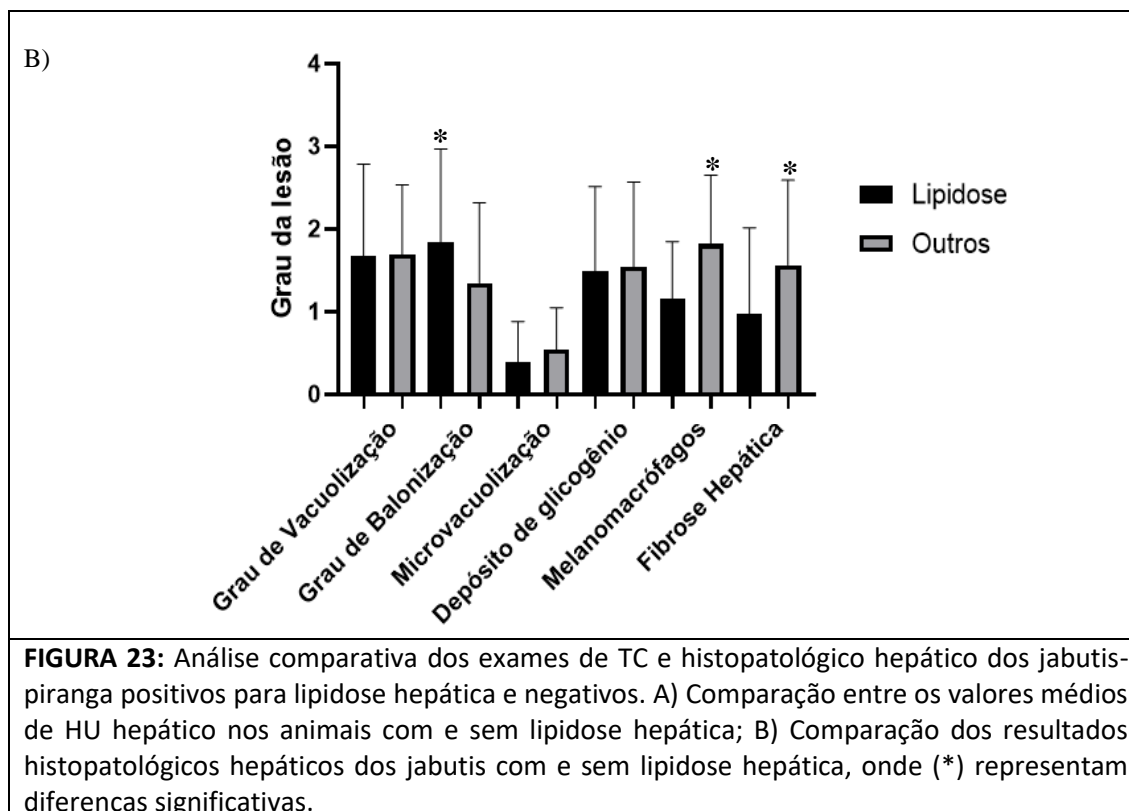
Na celioscopia, a presença de membrana esbranquiçada sobre a víscera foi um forte indicativo de fibrose hepática ($P < 0,0001$; $rs = 0,6354$). Da mesma forma, houve forte correlação entre os fragmentos de biópsia que flutuaram no formol com: menores valores de HU hepático ($Rho = -0,7703$; $P < 0,0001$), maior porcentagem da gordura subcarapacial ($Rho = 0,7551$; $P < 0,0001$) e maior porcentagem de gordura hepática ($Rho = 0,7042$; $P < 0,0001$). Ainda, bordos abaulados apresentaram moderada correlação com a porcentagem de gordura intra-hepática ($Rho = 0,4072$; $P < 0,0124$).

A verificação das correlações entre o exame histopatológico e a TC do tecido hepático dos jabutis foi realizada separadamente para cada lobo hepático. Não houve correlação significativa para a maioria das alterações histológicas, com exceção dos

melanomacrófagos que tiveram moderada correlação com o resultado do HU hepático, onde animais com maiores escores dessa variável apresentaram também maiores valores de HU hepático ($Rho=0,4209$; $P=0,0001$). Da mesma forma, o grau de melanomacrófagos teve moderada correlação com a porcentagem de gordura subcarapacial, em que jabutis com maiores porcentagens de gordura apresentaram menores quantidades dessa célula ($Rho=-0,4397$; $P=0,0045$). Ainda houve moderada correlação entre a porcentagem de gordura subcarapacial e a avaliação da fibrose hepática, em que maiores porcentagens de gordura representaram lâminas com menores classificações para fibrose hepática ($Rho=-0,3823$; $P=0,0328$). Por fim, maiores porcentagens de gordura intra-hepática apresentaram correlação com maior grau de balonização dos hepatócitos ($Rho=0,3524$; $P=0,040$).

Da maneira semelhante, os animais que apresentaram acúmulo gorduroso intra-hepático na avaliação pelo Slicer 3D foram considerados positivos para lipidose hepática. Os resultados dos exames do grupo lipidose hepática foram comparados com os dos demais. Sete fêmeas e nove machos somaram os 40% de animais positivos para lipidose hepática. Não houve influência do sexo e da sazonalidade nesse resultado. O grupo da lipidose apresentou valor médio de HU significativamente menor que os demais animais ($P<0,0001$), sendo que a atenuação hepática variou entre -39,8 e 12,2 HU para o grupo da lipidose e a média para o outro grupo foi de 41,1 HU (Figura 23). Além disso, o grupo dos jabutis com lipidose hepática apresentou maior grau de balonização ($P=0,044$), porém menor grau de melanomacrófagos ($P=0,0003$) e menor grau de fibrose hepática ($P=0,0126$).





5. CONCLUSÃO

No grupo dos cágados, os dados de TC e histopatológicos hepáticos demonstraram que as variações sazonais entre o período seco (não reprodutivo) e o período úmido (reprodutivo) não influenciaram significativamente o acúmulo de gordura intra-hepática; porém, influenciaram na avaliação bioquímica.

Ainda no grupo dos *Trachemys*, houve forte influência do sexo nas medidas de massa corpórea e porcentagem de gordura subcarapacial, em que as fêmeas apresentaram maiores valores para ambas as variáveis.

Como apresentado em outros estudos, a sazonalidade e o sexo influenciam os parâmetros hematológicos; mais especificamente, machos apresentam maiores níveis de hemoglobina e hematócrito em comparação com fêmeas. Enquanto para a bioquímica sérica ambos os sexos sofrem influência do período reprodutivo (estação quente e chuvosa), momento em que foi observado um aumento significativo para proteína total, albumina, globulina, triglicérides, cálcio total e amilase. Esses resultados sugerem maior atividade metabólica e influência reprodutiva. Além disso, as fêmeas

apresentaram, ao longo de todo o estudo, níveis mais elevados de triglicérides, colesterol, cálcio e fósforo em comparação com os machos, o que pode estar vinculado à atividade folicular durante o ano todo.

A avaliação tomográfica dos cágados nos dois períodos não apresentou mudanças significativas em relação à sazonalidade, mas apontou diferenças entre os sexos, nas quais as fêmeas apresentaram HU menores em comparação com os machos. De maneira semelhante, nos Jabutis, as fêmeas também apresentaram valores de HU inferiores aos dos machos. Além disso, para esta espécie, houve diferença em relação à sazonalidade na qual durante a estação chuvosa (verão) os valores médios de HU foram significativamente menores, especialmente nas fêmeas.

Os dois grupos de testudines apresentaram acúmulo de gordura subcarapacial distribuída nas áreas próximas à região inguinal estendendo-se para as laterais da parede celomática até a clavícula e no assoalho da cavidade. Entretanto, 27% dos jabutis no inverno e 42% no verão apresentaram acúmulo gorduroso intra-hepático na reconstrução tomográfica 3D. Cágados não demonstraram gordura intra-hepática. A porcentagem de gordura subcarapacial foi significativamente maior nas fêmeas em relação aos machos para ambas as espécies. Porém, apenas as fêmeas de jabutis tiveram aumento significativo da gordura subcarapacial na estação reprodutiva.

Apesar de inferir indiretamente no volume hepático e ser uma medida de fácil obtenção pela TC, a razão da área hepática no plano transversal não é ainda uma medida validada para essa avaliação. A mensuração do volume hepático é necessária para legitimar essa estimativa.

Os resultados da avaliação histopatológica revelaram maior deposição de glicogênio para ambos os sexos no verão, sendo essa diferença significativa apenas para os jabutis. Esse dado demonstra que não apenas o acúmulo lipídico pode ser influenciado pela sazonalidade, sendo que a glicogenose deve ser um diferencial para valores reduzidos de HU hepático em Jabutis.

A avaliação das correlações entre as variáveis estudadas demonstra que para ambas as espécies menores valores de HU podem estar associados a maiores acúmulos de gordura subcarapacial e maior área hepática. Da mesma forma, maiores porcentagens de gordura subcarapacial inferiram valores de triglicérides e colesterol mais altos.

A avaliação de fígados acinzentados, com bordos retraídos na celioscopia, pode sugerir maior fibrose e acarretar valores de AST mais acentuados.

A avaliação histopatológica por exclusão (H&E seguida de PAS) não é suficiente para determinar com exatidão o grau do acúmulo lipídico nos hepatócitos, especialmente em tecidos muito degenerados, sendo necessária a aplicação de técnicas histoquímicas específicas.

Apesar da TC ser uma excelente ferramenta para triagem de lipidose hepática, a combinação dos exames hematológicos, bioquímicos, imagem e histopatológicos é crucial nesse diagnóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDREANI, G. *et al.* Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni ssp.*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 43, n. 4, p. 573-583, 2014.
2. AMIRI, B. S. *et al.* Ultrasonography and CT examination of ovarian follicular development in '*Testudo graeca*' during 1 year in captivity. **Veterinary Medicine and Science**, v. 9, p. 2606-2616, 2023.
3. ASADI, F. *et al.* Serum lipid and lipoprotein profile of Asian tortoise. **Comparative Clinical Pathology**, v. 16, p. 193-195, 2007.
4. ASCHER, J.M., GENEVA, A.J., NG, J., WYATT, J.D., GLOR, R.E. Phylogenetic analyses of novel squamate adenovirus sequences in wild-caught Anolis lizards. **PLoS One**, v. 8, n. 4, e60977, 2013.
5. BARBOZA, TRINITA K. Hepatic Lipidosis in the Bearded Dragon (*Pogona vitticeps*): Diagnostic and Therapeutic Investigations. 2021. Tese (Doctor of Veterinary Science) – The University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, 2021.
6. BARBOZA, T., BEAUFRERE, H., REAVILL, D. and SUSTA, L. Morphological features of hepatic lipid changes in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) and proposed grading system. **Veterinary Pathology**. V.60, n.1, p.123– 132, 2023a.

7. BARBOZA, T., SUSTA, L., REAVILL, D. and BEAUFRERE, H., Prevalence and risk factors of hepatic lipid changes in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). **Veterinary Pathology**. V.60, n.1, p.133– 138, 2023b.
8. BARROS, M. S.; RESENDE, L. C.; SILVA, A. G.; FERREIRA JUNIOR, P. D. Morphological variations and sexual dimorphism in *Chelonoidis carbonaria* (Spix, 1824) and *Chelonoidis denticulata* (Linnaeus, 1766) (Testudinidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 1, p. 153–161, 2012.
9. BEAUFRERE, H. *et al.* Hepatic lipid accumulation is associated with multiple metabolic pathway alterations but not dyslipidemia and insulin resistance in central bearded dragons (*Pogona vitticeps*). **American Journal of Veterinary Research**. V.85, I.6, 2024.
10. BERG, K. J. *et al.* Single time point reference intervals for complete blood counts and select biochemistries in juvenile red-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*). **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 31, n. 2, p. 124-131, 2021
11. BERGAMINI, B. *et al.* Hematologic Variation Values of Captive Red-footed Tortoise (*Chelonoidis carbonaria*) in South Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.45, n.1426, p.1-6, 2017.
12. BLANVILLAIN, G.; OWENS, D. W.; KUCHLING, G. Hormones and Reproductive Cycles in Turtles. In: NORRIS, David O.; LOPEZ, Kelley H. (Eds.). **Hormones and Reproduction of Vertebrates**. Volume 3: Reptiles. Cambridge, Massachusetts: Elsevier, 2011. cap. 10, p. 277-303.
13. BOONE, S.S., *et al.* Comparison between coelioscopy and coeliotomy for liver biopsy in channel catfish. **Journal of American Veterinary Medical Association**. V. 233, N. 6, P.960-967, 2008.
14. BOYER, T.H. and BOYER, D.M. Turtles, tortoises, and terrapins, in Mader D.R. 1 ed. **Reptile Medicine and Surgery**. Philadelphia, WB Saunders, 1996, pp 61-78.
15. BOUR, R. 1980. Essai sur la taxonomic des Testudinidae actuels (Reptilia, Chelonii). **Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle**, n.4, v.2, p. 541-546, 1980.
16. BUJES, C. S.; ELY, I. and VERRASTRO, L. *Trachemys dorbigni* (Brazilian Slider). Diet. **Herpetological Review**, v. 16, p. 112-113, 2007.
17. BYDDER, G. M. *et al.* Computed tomography attenuation values in fatty liver. **Journal Computed Tomography**, v. 5, n. 1, p. 33-35, 1981

18. CALLARD, I. P., LANCE, V., SALHANICK, A. R. and BARAD, D. The annual ovarian cycle of *Chrysemys picta*: correlated changes in plasma steroids and parameters of vitellogenesis. **General and Comparative Endocrinology**, v. 35, p. 245–257, 1978.
19. CAMPBELL, T.W. Hematology of Reptiles. In: THARALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2nd ed. Ames IO John Wiley & Sons, 2012. p.277-296.
20. CARPENTER, J. W.; WHITAKER, B. R. and GIBBONS, P.M. Hematology and biochemistry tables. In: DIVERS, S.J. and STAHL, S. J. 3.ed. **Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery**. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2019. P.333–350.
21. COLON, V. and GUMPENBERGER, M. Diagnosis of hepatic lipidosis in a tiger salamander by quantitative CT. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 33, p. 18-22, 2020.
22. CORREIA, M. J. *et al.* Hematological profile and erythrocyte osmotic fragility of free-living yellow-footed tortoise *Chelonoidis denticulatus* (Linnaeus, 1766). **Veterinary Research Communications**, v. 49, n.19, 2025.
23. DE SOUZA, Silvia Cristina R. *et al.* Seasonal metabolic depression, substrate utilisation and changes in scaling patterns during the first year cycle of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 2, p. 307-318, 2004.
24. DEEM, S. L. *et al.* Comparison of blood values in foraging, nesting and stranded loggerhead turtle (*Caretta caretta*) along the coast of Georgia, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, v. 445, n. 1, p. 41-56, 2009
25. DERICKSON, W. K. Lipid Storage and Utilization in Reptiles. **American Zoologist**, v. 16, p. 711-723, 1976.
26. DI SANTO, LUDMILA G. **Consumo de Amido ou gordura sobre a digestibilidade, metabolismo energético e saúde de Jabutis (*Chelonoidis carbonaria*)**. 2021. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2021.
27. DIGIROLAMO, N. *et al.* Relationship, difference, and diagnostic discordance between blood ionized and total calcium concentrations in client-owned chelonians. **Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)**, v. 260, suppl. 2, p. 101-111, 2022.

28. DIVERS, S.J. Reptile diagnostic coelioscopy: a means to a definitive diagnosis. **The North American Veterinary Conference**. P.1619-1623, 2006.
29. DIVERS, S. J. and COOPER, J. E. Reptile Hepatic Lipidosis. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, V.9, N.3, p.153-164, 2000.
30. DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. and CAMUS, A. Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and kidney biopsy in freshwater turtles (*Trachemys scripta*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 41(4): 677–687, 2010.
31. DONOGHUE, S. and MCKEOWN, S. Nutrition of captive reptiles. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 2, n. 1, p. 69-89, Jan. 1999.
32. DUCOMMUN, J. C. *et al.* The relation of liver fat to computed tomography numbers: A preliminary experimental study in rabbits. **Radiology**, v. 130, p. 511-513, 1979
33. DUGGAN, A. *et al.* Seasonal variation in plasma lipids, lipoproteins, apolipoprotein A-I and vitellogenin in the freshwater turtle, *Chrysemys picta*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n. 130, p. 253–269, 2001.
34. DUTRA, G. H. P. Diagnostic value of hepatic enzymes, triglycerides and sérum proteins for the detection of hepatic lipidosis in *Chelonoidis carbonaria* in captivity. **Journal of Life Sciences**, v.8, n.8, p.633-639, 2014.
35. EATWELL, K. Comparison of total calcium, ionised calcium and albumin concentrations in the plasma of captive tortoises (*Testudo* species). **Veterinary Record**, v. 165, p. 466–468, 2009.
36. ERNST, C. H.; BARBOUR, R. W. AND LOVICH, J. E. Turtles of the United States and Canada. Washington DC: **Smithsonian Institution Press**. 578p. 1994.
37. FARIAS, I. P. *et al.* Population genetics of the Amazonian tortoises, *Chelonoidis denticulata* and *C. carbonaria* (Cryptodira: Testudinidae) in an area of sympatry. **Amphibia-Reptilia**, vol. 28, no. 3, p. 357-365, 2007.
38. FAGUNDES, C. K.; BAGER, A. and CECHIN, S. T. Z. *Trachemys dorbigni* in an anthropic environment in southern Brazil: I) Sexual size dimorphism and population estimates. **Herpetological Journal**, v. 20, p. 185-193, 2010a.
39. FAGUNDES, C.K.; BAGER, A. and CECHIN, S.T.Z. *Trachemys dorbigni* in an anthropic environment in southern Brazil: II) Reproductive ecology. **Herpetological Journal**, v. 20, p. 195–199, 2010b.

40. FERRER, C. *et al.* The liver of *Testudo graeca* (Chelonia). A comparative study of hibernating and non-hibernating animals. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.19, n. 2, p. 275-282. 1987.
41. FIGUEIREDO, Pedro I. C. C. Verificação da ocorrência de hibridação entre Tartaruga-Tigre-d'Água, *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) e Tartaruga-americana, *Trachemys scripta* (Thunberg & Schoepff, 1792). 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
42. FRANCO, J. R. *et al.* Atualização da normal climatológica e classificação climática de Köppen para o município de Botucatu-SP. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 28, n. 1, p. 77–92, jan./mar. 2023.
43. FUDGE, A. M. Laboratory reference ranges for selected avian, mammalian, and reptilian species. In: FUDGE, A. M., **Laboratory Medicine: Avian and Exotic Pets**. Philadelphia: Saunders. 2000. P.375–400.
44. GRADELA, A., *et al.* Serum biochemistry of *Trachemys scripta elegans* and *Trachemys dorbignyi* bred in captivity in the Northeastern semiarid region of Brazil. **Veterinary world**, vol.13, n.13, p.1083-1090, 2020.
45. GOLDBERG, D. W. *et al.* Serum biochemistry profile determination for wild loggerhead sea turtles nesting in Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 143-148, jan. 2011
46. GUMPENBERGER, M. and HENNINGER, W. The Use of Computed Tomography in Avian and Reptile Medicine. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, V. 10, N. 4, p. 174-180, 2001.
47. GUMPENBERGER, M. *et al.* Use of computed tomography to diagnose hepatic lipidosis in reptiles. In: PROC ASSOC REPT AMPH VET, EUA, 2011. p. 174–176.
48. GUMPENBERGER, M. Diagnostic Imaging of Reproductive Tract Disorders in Reptiles. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice.**, v. 20, p. 327-343, 2017.
49. GUZMÁN, A. and STEVENSON, P. R. Seed dispersal, habitat selection and movement patterns in the Amazonian tortoise, *Geochelone denticulata*. **Amphibia-Reptilia**, v.29, n.4, p.463-472, 2008.

50. HATHCOCK, J. T., and STICKLE, R. L. Principles and Concepts of Computed Tomography. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.23, n.2, p.399–415, 1993.
51. HENEN, B. T. and HOFMEYER, M. D. Viewing chelonian reproductive ecology through acoustic windows: cranial and inguinal perspectives. **Journal of Experimental Zoology**, v. 297A, n.1, p. 88-104, 2003.
52. HERNANDEZ-DIVERS, Stephen J. *et al.* A review of reptile diagnostic coelioscopy. **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 15, n. 3, p. 16–30, 2005.
53. HERNÁNDEZ P., O. E. Reproducción y crecimiento del morrocoy, *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824) (Reptilia, Testudinidae). **Biollania**, Caracas, v. 13, p. 165-183, 1997.
54. HERNANDEZ, J.D. *et al.* Seasonal variations in haematological parameters in yellow-bellied slider turtles (*Trachemys scripta scripta*). **Veterinarni Medicina**, n.62, v.07, p.394-400, 2017.
55. HOVE, M. *et al.* The hepatic lipidome: From basic science to clinical translation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 159, p. 180-197, 2020.
56. INNIS, C. and KNOTEK, Z. Tortoises and Freshwater Turtles. **Exotic Animal Laboratory Diagnosis**, p.255-289, 2020.
57. INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília: ICMBio/MMA, 2018. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol1.pdf. Acesso em: 10 out. 2023.
58. JEPSON, Lance. **Cágados e jabutis**. In: JEPSON, Lance. *Clínica de animais exóticos: referência rápida*. Tradução de Renata Scavone de Oliveira et al. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 9, p. 454–515. Tradução de: *Exotic animal medicine*.
59. JEROZOLIMSKI, A. *Ecologia de populações silvestres dos jabutis Geochelone denticulata e G. carbonaria (Cryptodira: Testudinidae) no território da aldeia A'Ukre, TI Kayapó, sul do Pará*. 2005. Tese (Doutorado em Ecologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
60. JEROZOLIMSKI, A., RIBEIRO, MBN. and MARTINS, M. Are tortoises important seed dispersers in Amazonian forests? **Oecologia**, v.161, n.3, p. 517-528, 2009.

61. JIN, F. *et al.* Analysis of Lipid Metabolism in Adipose Tissue and Liver of Chinese Soft-Shell Turtle *Pelodiscus sinensis* During Hibernation. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 25, n. 22, p. 120-124, 2024.
62. JIRAPATNAKUL, A. *et al.* Automated measurement of liver attenuation to identify moderate-to-severe hepatic steatosis from chest CT scans. **European Journal of Radiology**, v. 122, 2020.
63. KING, E., *et al.* Hepatic CT attenuation differs in three species of freshwater turtles and hepatic Hounsfield units increase with folliculogenesis in wild Blanding's turtles (*Emydoidea blandingii*). **Veterinary Radiology Ultrasound**. P. 1-9, 2019.
64. KUCHLING, G. **The Reproductive Biology of the Chelonia**. Berlin: Springer, 1998.
65. KWAN, D. Fat reserves and reproduction in the green turtle, *Chelonia mydas*. **Wildlife Research**, v. 21, p. 257-266, 1994.
66. LACKNER, C. Hepatocellular ballooning in nonalcoholic steatohepatitis: the pathologist's perspective. **Expert Review of Gastroenterology & Hepatology**, v. 5, n. 2, p. 223–231, 2011.
67. LAGARDE, F. *et al.* Plasma steroid and nutrient levels during the active season in wild *Testudo horsfieldi*. **General and Comparative Endocrinology**, 134, 139–146, 2003.
68. LEANDER, P.; MÅNSSON, S.; PETTERSSON, G. Glycogen content in rat liver: importance for CT and MR imaging. **Acta Radiologica**, v. 41, p. 92-95, 2000.
69. LEWBART, G. A. *et al.* Biochemistry and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chathamensis*). **Conservation Physiology**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2018.
70. LI, Y.-Y. *et al.* Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: dilemmas and future directions. **Liver International**, v. 43, n. 6, p. 1170–1182, 2023.
71. MANS, C. Clinical update on diagnosis and management of disorders of the digestive system of reptiles. **Journal of Exotic Pet Medicine**. V.22, p.141–162, 2013.
72. MARCHIORI, A., *et al.* Use of computed tomography for investigation of hepatic lipidosis in captive *Chelonoidis carbonaria* (spix, 1824). **Journal of zoo and wildlife medicine**. V. 46, n.2, p. 320–324, 2015.
73. MARSCHANG, R. E. Viruses Infecting Reptiles. **Viruses-Basel**, v. 3, n. 11, p. 2087-2126, 2011.

74. MAYOR, P. *et al.* Ovarian cycle, reproductive performance and breeding seasonality of Amazonian yellow-footed tortoises (*Chelonoidis denticulatus*) in the wild. **Theriogenology Wild**, v. 2, p. 100022, 2023.
75. MCARTHUR, S.; *et al.* Roundtable: Chelonian herpesviruses. **Journal of Herpetology Medicine and Surgery**, n. 12, p. 14–31, 2002.
76. MCARTHUR, S.; MEYER, J. and INNIS, C. Anatomy and physiology. In: MCARTHUR, S.; WILKINSON, R.; MEYER, J. (Eds). **Medicine and surgery of tortoises and turtles**. Oxford (NY): Blackwell, p.35–72, 2004.
77. MCGUIRE, J. L. *et al.* Safety and utility of an anesthetic protocol for the collection of biological samples from gopher tortoises. **Wildlife Society Bulletin**, v. 38, n.1, p. 43–50, 2013.
78. MCPHERSON, R. J. and MARION, K. R. Seasonal changes of total lipids in the turtle *Sternotherus odoratus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A: Molecular and Integrative Physiology 71A, 93–98, 1982.
79. MOREIRA, G. Sympatry of turtles *Geochelone carbonária* and *Geochelone denticulata* in the Rio Uatumã basin, Central Amazonia. **Journal of Herpetology**, v. 23, n. 2, p. 183-185, 1989.
80. MOSKOVITS, D. Sexual dimorphism and population estimates of the two Amazonian tortoises (*Geochelone carbonária* and *G. denticulata*) in Northwestern Brazil. **Herpetologica**, v. 44, n.2, p. 209-217, 1988.
81. MOSKOVITS, D. and BJORN DAL, K. A. Diet and food preferences of the tortoises *Geochelone carbonaria* and *G. denticulata* in Northwestern Brazil. **Herpetologica**, v. 42, n. 2, p. 207-218, 1990.
82. NARDINI, G., *et al.* Evaluation of liver parenchyma and perfusion using dynamic contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced ultrasonography in captive green iguanas (*Iguana iguana*) under general anesthesia. **BMC Veterinary Research**. V. 10, p.112-121, 2014.
83. OLIVEIRA, A. S. *et al.* Effects of fasting and refeeding on the metabolic functions of the turtle *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) raised in captivity. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Luís, MA, v. 33, n. 8, p. 1041-1044, 2013.

84. OLIVEIRA-FILHO, H. S., *et al.* Clinical and anatomopathological findings of lipid-related lesions in wild and pet birds from the State of Paraíba, Northeastern Brazil. ***Pesquisa Veterinária Brasileira***, 43, 2023.
85. OLSON, S.L. and DAVID, N. The gender of the tortoise genus *Chelonoidis* Fitzinger, 1835 (Testudines: Testudinidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, vol. 126, n.4, p. 393-394, 2014.
86. O'ROURKE, D. P. and LERTPIRIYAPONG, K. Biology and Diseases of Reptiles. In: **Laboratory Animal Medicine**. Oxford: Academic Press, 2015. Cap. 19. p. 967-1013.
87. PAZ, M. M. *et al.* Study of lipid reserves in *Liolaemus koslowskyi* (Squamata: Liolaemidae): reproductive and ecological implications. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 189, n. 5, p. 595–609, 2019.
88. PERRY, A. M. and NEVAREZ, J. G. Pain and its control in reptiles. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**. V.21, N.1, p.1-16, 2018.
89. PRICE, E. R. The physiology of lipid storage and use in reptiles. **Biological Reviews**, Cambridge, p. 000-000, 2016.
90. PRITCHARD, PCH. and TREBBAU, P. *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824) and *Geochelone (Chelonoidis) denticulata* (Linnaeus, 1766). In PRITCHARD, PCH. And TREBBAU, P. (Eds.). *The Turtles of Venezuela*. Caracas: **Society of Study of Amphibians and Reptiles**. p. 207-231, 1984.
91. RIVERA, S. *et al.* Systemic adenovirus infection in Sulawesi tortoises (*Indotestudo forsteni*) caused by a novel siadenovirus. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 21, p. 415–426, 2009.
92. STAREKOVA, J. and REEDER, S. B. Liver fat quantification: where do we stand? **Abdominal Radiology (NY)**, v. 45, n. 11, p. 3386-3399, nov. 2020.
93. SARTORI, M. R., NAVARRO, C. D. C., CASTILHO, R. F. and VERCESI, A. E. Aggravation of hepatic lipidosis in red-footed tortoise *Chelonoidis carbonaria* with age is associated with alterations in liver mitochondria. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, p.1-8, 2022.
94. SCHILDGER, B. J. *et al.* Endoscopic Examination of the Pleuro-Peritoneal Cavity in Reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. V. 8, N. 3, p. 130-138, 1999.

95. SCHUMACHER, J. and TOAL, R. L. Advanced radiography and ultrasonography in reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 10, n. 4, p. 162-168, 2001.
96. SCHUMACHER, V.L. *et al.* Sulawesi tortoise adenovirus- 1 in two impressed tortoises (*Manouria impressa*) and a Burmese star tortoise (*Geochelone platynota*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, n. 43, p. 501–510, 2012.
97. SILVA, A. M. R.; MORALES, G. S. and WASSERMANN, G. F. Seasonal variations of testicular morphology and plasma levels of testosterone in the turtle *Chrysemys dorsignii*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 78, p. 153–157, 1984.
98. SILVA, R. S. M. and MIGLIORINI, R. H. Effects of starvation and refeeding on energy-linked metabolic processes in the turtle (*Phrynops hilarii*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A: Molecular and Integrative Physiology, 96A, p. 415–419, 1990.
99. SIMPSON, M. Hepatic Lipidosis in a Black-Headed Python (*Aspidites melanocephalus*). **Veterinary Clinics of Exotic Animal Practice**, V.9, p. 589–598, 2006.
100. SLADKY, K. K. and MANS, C. Clinical Anesthesia in Reptiles. **Journal of exotic pet medicine**, v.21, p.17-31, 2012.
101. STEVENSON, P. R.; BORDA, C. A.; ROJAS, A. M. and ÁLVAREZ, M. Population size, habitat choice and sexual dimorphism of the Amazonian tortoise (*Geochelone denticulata*) in Tinigua National Park, Colombia. **Amphibia-Reptilia**, v. 28, p. 217–226, 2007.
102. STRONG, J. N. and FRAGOSO, J. M. V. Seed dispersal by *Geochelone carbonaria* and *Geochelone denticulata* in Northwestern Brazil. **Biotropica**, vol. 38, no. 5, p. 683-686, 2006.
103. SYKES, J.M. and KLAPHAKE, E. Reptile Hematology. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, n.18, p.63-82, 2015.
104. TEIXEIRA, C.M.C. Avaliação radiográfica, ultra-sonográfica e endócrina do ciclo reprodutivo de jabutis-piranga (*Geochelone carbonaria*, SPIX, 1824) e jabutis-tinga (*Geochelone denticulata*, Lineu, 1766). 2009. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

105. THE JAMOVI PROJECT. *Jamovi*. Versão 2.6 [programa de computador], 2024. Disponível em: <https://www.jamovi.org>. Acesso em: 1 jul. 2025.
106. THOMAS, R. B. *et al.* Sexual and Seasonal Differences in Behavior of *Trachemys scripta* (Testudines: Emydidae). **Journal of Herpetology**, Vol. 33, No. 3, p. 511-515, 1999.
107. TIDWELL, A. S. Principles of computed tomography and magnetic resonance imaging. In: THRALL, D.E. (Ed.). **Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology**. 5 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., p.50-77, 2007.
108. VANZOLINI, PE. A note on the reproduction of *Geochelone carbonaria* and *G. denticulata* (Testudines, Testudinidae). **Brazilian Journal of Biology**, vol. 59, no. 4, p. 593-608, 1999.
109. VOGT, R. C.; FERRARA, C. R. and BERNARDES, L. F. C. *Trachemys dorbigni* (Duméril and Bibron 1835) – Brazilian Slider, Tartaruga-tigre-d'água. In: RHODIN, A. G. J. et al. (Eds.). *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. **Chelonian Research Foundation**, 2017. p. 1-10.
110. WALDEN, Margarete A.; JANIA, Rachel; KINNEY, Matthew E.; DEVAN-SONG, Anne; DRAKE, K. Kristina; ESQUE, Todd C.; SHOEMAKER, Kevin T. Computed tomography for measuring body fat reserves in the threatened Mojave Desert Tortoise (*Gopherus agassizii*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 53, n. 2, p. 412-423, 202.
111. WANG, E. *et al.* Food Habits and Notes on the Biology of *Chelonoidis carbonaria* (Spix 1824) (Testudinidae, Chelonia) in the Southern Pantanal, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, n.6, v.1, p.11–19, 2011.
112. WEST, G. Endoscopic Hepatic Biopsy in Coahuilan Box Turtles, *Terrapene coahuila*. **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v.11, n.2, p.28-29, 2001.
113. WIBBELS, T. *et al.* Seasonal changes in gonadal steroid concentrations associated with migration, mating, and nesting in loggerhead sea turtles. **General and Comparative Endocrinology**, v. 79, p. 154–164, 1990.
114. WRIGHT, K. Feeling Green: Diagnosing and Managing Liver Disease in Reptiles. In: ASSOCIATION OF REPTILIAN AND AMPHIBIAN VETERINARIANS CONFERENCE, 2012,

Oakland. **Proceedings of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians**, p. 31-36, 2012.

115. XIANG, J. and PEICHAO, W. Annual cycles of lipid contents and caloric values of carcass and some organs of the gecko, *Gecko japonicus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Vol. 96A, n. 2, p. 267-271, 1990.
116. ZUFFI, M.A. and PLAITANO, A. Similarities and differences in adult tortoises: a morphological approach and its implication for reproduction and mobility between species. **Acta Herpetologica**, vol. 2, n. 2, p. 79-86, 2007.

ARTIGO 1

Trabalho a ser submetido à revista: *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* – AAZV
(www.editorialmanager.com/jzwm/default.aspx).

“INFLUENCE OF THE REPRODUCTIVE AND NON-REPRODUCTIVE SEASON ON HEPATIC FAT ACCUMULATION IN *TRACHEMYS SP.*: CORRELATIONS OF COMPUTED TOMOGRAPHY, HISTOPATHOLOGY, BIOCHEMISTRY AND CELIOSCOPY”

ROLIM, L. S.

Abstract:

The hepatic energy storage of twenty-four freshwater turtles was assessed using computed tomography, 3D Slicer, serum biochemistry, and histopathological analysis of liver biopsies to investigate the influence of seasonality and sex.

In the animal group evaluated, seasonality did not influence hepatic fat and glycogen stores; however, there were significant differences between the sexes. Females had larger subcarapacial fat bodies, lower hepatic HU values, and a greater degree of hepatocyte ballooning. Furthermore, females maintained higher cholesterol, triglyceride, and calcium levels, especially in the summer.

Introduction

Several species of turtles, such as those of the genus *Trachemys*, are kept as pets. Because they are ectodermal animals, their maintenance requires special care regarding their environment and diet; however, handling errors are common, compromising the animal's health.⁶ Liver diseases, such as lipidosis, are often associated with nutritional imbalance and inadequate environmental management, but seasonal variations can also induce physiological changes in reptiles, making definitive diagnosis more difficult.^{1,2}

This study aimed to investigate the influence of the reproductive and non-reproductive seasons on hepatic fat accumulation in freshwater turtles, evaluate the sensitivity of

computed tomography (CT) for identifying this variation, and assess how this imaging technique can be used as an effective diagnostic tool. Additionally, the correlations between CT results, serum biochemistry, and hepatic histopathology were examined.

Materials and Methods

A cross-sectional study was conducted on fifteen adult *Trachemys* sp. turtles (both males and females) from captivity in São Paulo, Brazil.

The evaluations were carried out at two distinct periods: during the dry winter season (June to August), when the animals were not reproducing, and during the wet summer season (December to February), which corresponds to the reproductive period for both species. The timing of the evaluations was based on a review of the literature regarding seasonal influences on reproduction and activity of Brazilian chelonian species.

The study was approved by the Ethics Committee for Animal Use (CEUA) of UNESP in April 2023 (Protocol 0350/2023).

Inclusion Criteria

Only adult animals weighing over 600g were selected. They were sexed based on morphological characteristics, and all animals showed no signs of illness upon individual evaluation.

Animals were monitored daily throughout 2023-2025 and weighed quarterly to obtain data on weight gain and carapace growth. Any animals showing signs of lesions or weakness were excluded from the study. No dietary changes were made during this period.

Advanced Imaging Examination

The CT scan was performed with the animals in ventral decubitus, and a drape was used to maintain the pelvic limbs together and the front limbs fixed on the CT table. The procedure was performed under mild sedation with dexmedetomidine (0.02 mg/kg). The device used was a Shimadzu SCT-7800 CT (Shimadzu, Kyoto, Japan), calibrated with 120 kVp and 130 mA.⁹

Images were acquired in cross-sectional slices, reconstructed into multiplanar reconstructions (MPR), and regions of interest (ROI) were selected for densitometric

evaluation, avoiding vascular structures.⁹ Twelve ROIs were selected per animal, with two in each liver lobe (right and left, ventral and dorsal) from three different cuts, each with an area of 25 mm². Image assessment was conducted using the PACS system (Synapse, Fuji Medical System, Tokyo, Japan).

The mean attenuation values (HU) of hepatic parenchyma were calculated for each animal, and these values were compared with serum and histopathological results.

The percentage of fatty body was calculated by the software 3D Slicer using a measurement tool after 3D reconstruction and a threshold from -10 to -110 HU.¹⁸

Hematological and Serum Biochemistry Evaluation

Blood samples were collected from the jugular vein, stored in heparinized tubes, and processed within the first hours. All animals were fasted for 48 hours before the blood collection.

Hematological evaluations included packed cell volume (PCV), total erythrocyte and leukocyte count (performed manually in a Neubauer chamber with Natt-Herrick diluent). Blood smears were stained with Panotic stain for differential cell count (heterophils, basophils, lymphocytes, eosinophils, and thrombocytes).^{4, 17}

Serum biochemistry was performed to determine aspartate aminotransferase (AST), total calcium (Ca⁺⁺), phosphorus (P), total protein (TP), albumin (ALB), globulins (GLOB), Cholesterol (CT), and triglycerides (TG) using an enzymatic colorimetric method (EBRAM®).

Hepatic Biopsy via Laparoscopy

The procedure was performed in a temperature-controlled environment (27°C), with a 48-hour fasting period prior to the examination. Sedation was achieved using ketamine (10 mg/kg), dexmedetomidine (0.1 mg/kg), and morphine (1 mg/kg) via intramuscular injection. A venous catheter was placed in the jugular vein, and general anesthesia was induced with propofol (5 mg/kg IV) and maintained with isoflurane (2% in oxygen). Analgesia was supplemented with intrathecal lidocaine (4 mg/kg) and tramadol (5 mg/kg IM every 12 hours for 2 days post-procedure).

Laparoscopy was performed from femoral access to collect liver biopsies using a 2mm endoscopic biopsy forceps.⁶ Samples were obtained from both liver lobes, fixed in 10% buffered formalin for histopathological evaluation.

Histopathology of Hepatic Tissue

Liver biopsy samples were processed for paraffin embedding and stained with Hematoxylin and Eosin (H&E) for basic histological analysis, including the evaluation of hepatocellular vacuolization. Masson's Trichrome and Periodic Acid-Schiff (PAS) stains were used to assess hepatic fibrosis and glycogen deposition, respectively.¹ All slides were reviewed by two veterinary pathologists with experience in reptile histology, performing a double-blind evaluation.

Results

Fifteen turtles (eight females and seven males of the genus *Trachemys* sp.) were evaluated during two seasonal periods (summer and winter). Females had significantly greater body mass than males ($P=0.0067$). A hematological comparison between the periods revealed significantly higher MCV ($P=0.0147$) and TPP ($P=0.0078$) values during winter. Also, during this period, males showed significant increases in hemoglobin ($P=0.0156$) and hematocrit ($P=0.0218$), while other hematological parameters showed no significant variations.

Biochemical parameters showed differences between the sexes, with females having significantly higher values of triglycerides ($P=0.0121$), cholesterol ($P=0.0059$), and calcium ($P=0.0126$), although no differences were observed between the seasonal periods. During winter, there was a significant increase in total protein (females: $P=0.0066$; males: $P=0.0105$) and globulin (females: $P=0.0050$; males: $P=0.0088$).

In the tomographic evaluation, no statistical differences were observed between the periods regarding liver attenuation (HU), but males presented significantly higher values than females ($P=0.0182$). A greater amount of subcarapacial fat was also identified in females (45.33 cm^3 or 4% of the total carapace volume) compared to males (7.95 cm^3 or 1.25%) ($P=0.0022$). During winter, there was a slight increase in this fat in males, without statistical significance. Tomographic correlations demonstrated a strong negative correlation between % subcarapacial fat and hepatic HU ($\text{Rho} = -0.631$; $P < 0.001$).

Macroscopic liver evaluation by celioscopy demonstrated seasonal variations in liver color and size. In summer, 20% of the livers showed signs of increased volume and yellowish coloration, while in winter, 80% of the livers were preserved.

Histological evaluation revealed a significant increase in hepatic ballooning in summer, especially among females ($P = 0.0020$), with mild or absent vacuolization. Glycogen deposits and areas of fibrosis were observed in both periods, with no statistical differences between sexes or seasons.

Correlation analyses demonstrated an association between biochemical tests and tomography: there was a strong positive correlation between % subcarapacial fat and triglycerides ($Rho = 0.665$; $P < 0.001$) and cholesterol ($Rho = 0.649$; $P < 0.001$). Histology showed a moderate correlation with biochemical and tomographic variables, especially between the degree of hepatic ballooning and % subcarapacial fat ($Rho = -0.511$; $P < 0.001$), suggesting a relationship between lipid accumulation and hepatic morphological alterations. The AST enzyme showed a weak correlation with hepatic fibrosis ($Rho = 0.364$; $P = 0.011$) and was elevated in all animals with moderate or high degrees of fibrosis.

Discussion

The results obtained reveal significant physiological differences between the sexes of *Trachemys* sp., especially in biochemical parameters and energy reserves, likely related to the female reproductive cycle.^{3,7} The increase in triglycerides, cholesterol, and calcium in females is consistent with the findings of Innis & Knotek (2020), Deem et al. (2009), and DiGirolamo et al. (2022), who associate these changes with vitellogenesis and estrogenic stimulation of lipid and mineral mobilization for egg formation.

The increase in total protein and globulin during winter in both sexes may be related to reduced metabolism and renal excretion, possibly associated with decreased environmental temperature and water consumption. This behavior is consistent with physiological adaptations observed in ectothermic reptiles.

The absence of significant variations in hepatic HU values between seasons suggests that seasonality did not directly impact liver density. However, the difference between the sexes can be attributed to greater hepatic lipid accumulation in females, corroborating the role of vitellogenesis in modifying liver composition. The negative correlation

between hepatic HU and subcarapacial fat reinforces this hypothesis, indicating that animals with greater fat accumulation had less dense livers on tomography.

Histological observations support this interpretation, as increased hepatic ballooning was observed in the summer. However, the absence of well-defined vacuolization may also suggest hydropic cellular degeneration. Lipid-specific histochemical techniques are necessary to differentiate this. The presence of fibrosis and glycogen deposits in both periods, without significant differences, suggests that such changes are common in adult turtles but are not strongly modulated by the season in these species.

The correlations between biochemical, tomographic, and histological findings suggest that computed tomography (CT) examination, especially analysis of subcarapacial fat and hepatic attenuation, may be a useful tool for inferring the metabolic and hepatic status of animals. The association between reduced hepatic HU and increased serum lipids, subcarapacial fat, vacuolization, and hepatic ballooning raises the possibility of an adaptive process linked to reproduction, but also highlights the risk of subclinical hepatic steatosis in turtles kept under human care.

Conclusion

The results of this study indicate that the liver physiology of turtles of the genus *Trachemys* is significantly influenced by sex and, to a lesser extent, by seasonality. Females exhibited greater accumulation of subcarapacial fat and hepatic changes consistent with the reproductive period, suggesting that the reproductive cycle directly impacts lipid metabolism and liver morphology. Computed tomography proved effective in identifying these alterations, particularly through the analysis of hepatic attenuation and body fat volume, showing correlations with biochemical and histopathological parameters. These findings highlight the potential of CT as a complementary diagnostic tool for assessing metabolic changes in turtles, enabling early detection of conditions such as hepatic steatosis, although it remains insufficient for definitive diagnosis. The integration of imaging, biochemical, and histological analyses is essential for a more accurate and preventive approach in reptile medicine.

Literature Cited

1. Barboza, T., Beaufriere, H., Reavill, D., and Susta, L. Morphological features of hepatic lipid changes in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) and proposed grading system. **Veterinary Pathology**. 2023; 60(1): 123– 132.
2. Beaufriere, H. *et al.* Hepatic lipid accumulation is associated with multiple metabolic pathway alterations but not dyslipidemia and insulin resistance in central bearded dragons (*Pogona vitticeps*). **American Journal of Veterinary Research**. 2024; 85(6).
3. Blanvillain, G.; Owens, D. W.; Kuchling, G. Hormones and Reproductive Cycles in Turtles. In: NORRIS, David O.; LOPEZ, Kelley H. (Eds.). **Hormones and Reproduction of Vertebrates**. Volume 3: Reptiles. Cambridge, Massachusetts: Elsevier, 2011. cap. 10, p. 277-303.
4. Campbell, T.W. Hematology of Reptiles. In: THARALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2nd ed. Ames IO John Wiley & Sons, 2012. p.277-296.
5. Derickson, W. K. Lipid Storage and Utilization in Reptiles. **American Zoologist**, 1976; 16(1): 711-723.
6. Divers, S. J.; Stahl, S. J. and Camus, A. Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and kidney biopsy in freshwater turtles (*Trachemys scripta*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 2010; 41(4): 677–687.
7. Duggan, A. *et al.* Seasonal variation in plasma lipids, lipoproteins, apolipoprotein A-I, and vitellogenin in the freshwater turtle, *Chrysemys picta*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 2001; 130: 253–269.
8. Gumpfenberger, M. *et al.* Use of computed tomography to diagnose hepatic lipidosis in reptiles. In: PROC ASSOC REPT AMPH VET, EUA, 2011. p. 174–176.
9. King, E., *et al.* Hepatic CT attenuation differs in three species of freshwater turtles and hepatic Hounsfield units increase with folliculogenesis in wild Blanding's turtles (*Emydoidea blandingii*). **Veterinary Radiology Ultrasound**. 2019: 1-9.
10. Lewbart, G. A. *et al.* Biochemistry and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chathamensis*). **Conservation Physiology**, 2018; 6(1): 1-8.

11. Lagarde, F. *et al.* Plasma steroid and nutrient levels during the active season in wild *Testudo horsfieldi*. **General and Comparative Endocrinology**, 2003; 134: 139–146.
12. Li, Y.-Y. *et al.* Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: dilemmas and future directions. **Liver International**, 2023; 43(6): 1170–1182.
13. Nardini, G., *et al.* Evaluation of liver parenchyma and perfusion using dynamic contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced ultrasonography in captive green iguanas (*Iguana iguana*) under general anesthesia. **BMC Veterinary Research**. 2014; 10(1): 112-121.
14. Oliveira, A. S. *et al.* Effects of fasting and refeeding on the metabolic functions of the turtle *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) raised in captivity. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Luís, MA, 2013; 33(8): 1041-1044.
15. Price, E. R. The physiology of lipid storage and use in reptiles. **Biological Reviews**, Cambridge, 2016.
16. Schildger, B. J. *et al.* Endoscopic Examination of the Pleuro-Peritoneal Cavity in Reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. V. 8, N. 3, p. 130-138, 1999.
17. Sykes, J.M. and Klaphake, E. Reptile Hematology. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, 2015; 18:63-82.
18. Walden, M. A. *et al.* Computed tomography for measuring body fat reserves in the threatened Mojave Desert Tortoise (*Gopherus agassizii*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 2022; 53(2): 412-423.

ARTIGO 2

Trabalho a ser submetido à revista: *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* – AAZV (www.editorialmanager.com/jzwm/default.aspx).

TÍTULO: INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NO ARMAZENAMENTO DE ENERGIA HEPÁTICA EM *CHELONOIDIS CARBONARIA*: ASPECTOS HEMATOLÓGICO, TOMOGRÁFICO E HISTOPATOLÓGICO

“SEASONAL HEPATIC ENERGY STORAGE IN CHELONOIDIS CARBONARIA: AN INTEGRATIVE HEMATOLOGICAL, TOMOGRAPHIC, AND HISTOPATHOLOGICAL STUDY ”

ROLIM, L. S.

RESUMO: Este estudo avaliou os efeitos da sazonalidade e do sexo nos parâmetros hematológicos, bioquímicos, tomográficos e histopatológicos do fígado de *Chelonoidis carbonaria* (Jabutis-piranga), em dois períodos distintos, com ênfase na identificação de indicadores de acúmulo gorduroso hepático e no perfil da distribuição das reservas energéticas para a espécie. Foram utilizados 20 animais adultos, machos e fêmeas, monitorados durante os períodos secos e frios (inverno, não reprodutivo) e quentes e úmidos (verão, reprodutivo). Os resultados revelaram influências sazonais e sexuais significativas sobre diversos parâmetros fisiológicos e hepáticos. Fêmeas apresentaram maiores concentrações de triglicérides, colesterol, cálcio e fósforo, e maior acúmulo de gordura intra-hepática e subcarapacial em relação aos machos para ambos os períodos, especialmente durante a estação reprodutiva (verão). Ainda no verão, observou-se redução da atenuação hepática (HU) e maior prevalência de vacuolização, glicogenose e outras alterações histológicas compatíveis com degeneração hepática. Correlações estatísticas entre exames bioquímicos, tomografia computadorizada e histopatologia foram estabelecidas, evidenciando a interação entre os diferentes métodos diagnósticos nas estações reprodutivas e não reprodutivas.

Palavras-chave: Jabuti-piranga, esteatose hepática, histopatologia, tomografia computadorizada, sazonalidade, metabolismo (não precisa na AAZV)

INTRODUÇÃO:

O Jabuti-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) é uma espécie amplamente distribuída na América do Sul e frequentemente mantida em cativeiro, sendo suscetível às alterações hepáticas, como o acúmulo de lipídeos e glicogênio. A lipidose hepática em reptéis pode ser uma condição fisiológica ou patológica e está relacionada a diversos fatores, como dieta, sazonalidade, metabolismo e condições reprodutivas. A presente pesquisa teve como objetivo avaliar indicadores hematológicos, bioquímicos, tomográficos e histopatológicos do fígado em estação reprodutiva e não reprodutiva, visando caracterizar os efeitos da sazonalidade sobre o metabolismo energético hepático.

MATERIAIS E MÉTODOS:

Foram incluídos 20 *Chelonoidis carbonaria*, 13 machos e 7 fêmeas, adultos (acima de 1,8 kg), clinicamente saudáveis. Os animais foram mantidos pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, São Paulo – Brasil e monitorados entre 2023 e 2025. As avaliações foram realizadas para todos os animais em dois momentos: inverno (junho/julho - média 18°C e 65% de umidade relativa do ar) e verão (janeiro/fevereiro - média 26,5°C e 75% de umidade). Os exames incluíram hemograma, bioquímica sérica, tomografia computadorizada e coleta de biopsia para histopatologia hepática básica. Os valores médios de atenuação (HU) do parênquima hepático e da gordura subcarapacial foram calculados para cada animal, e esses valores foram comparados com os resultados séricos e histopatológicos.

Avaliação Hematológica e Bioquímica Sérica

Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular, armazenadas em tubos heparinizados e processadas nas primeiras horas. Todos os animais permaneceram em jejum por 48 horas antes da coleta de sangue.

As avaliações hematológicas incluíram volume globular (VGC), contagem total de eritrócitos e leucócitos (realizada manualmente em câmara de Neubauer com diluente Natt-Herrick). Os esfregaços sanguíneos foram corados com corante Panotic para contagem diferencial de células (heterófilos, basófilos, linfócitos, eosinófilos e trombócitos).

A bioquímica sérica foi realizada para determinar aspartato aminotransferase (AST), cálcio total (Ca⁺⁺), fósforo (P), proteína total (PT), albumina (ALB), globulinas (GLOB),

colesterol (CT) e triglicerídeos (TG) usando um método colorimétrico enzimático (EBRAM®).

Exame Avançado de Imagem

A tomografia computadorizada foi realizada com os animais em decúbito ventral e sob sedação com propofol (4 mg/kg IV). O aparelho utilizado foi um tomógrafo Shimadzu SCT-7800 (Shimadzu, Kyoto, Japão), calibrado com 120 kVp e 160 mA.

As imagens foram adquiridas em cortes transversais, e reconstruções multiplanares (MPR) realizadas, e as regiões de interesse (ROI) foram selecionadas para avaliação da atenuação, evitando-se estruturas vasculares. Dezesesseis ROIs foram selecionadas por animal, sendo dois em cada lobo hepático (direito e esquerdo, ventral e dorsal) a partir de quatro cortes diferentes, cada ROI compreendia uma área de 25 mm². A avaliação das imagens foi realizada utilizando o sistema PACS (Synapse, Fuji Medical System, Tóquio, Japão).

A porcentagem de gordura corporal foi calculada pelo software 3D Slicer, utilizando uma ferramenta de medição após aplicação de um filtro com seleção de tecidos com -10 a -110 HU e sua reconstrução 3D.

Biópsia Hepática por Laparoscopia

O procedimento foi realizado em ambiente com temperatura controlada (27°C), com jejum de 48 horas antes do exame. A sedação foi obtida com cetamina (10 mg/kg) e diazepam (0,5 mg/kg) por via intramuscular. Um cateter venoso foi inserido na veia jugular, e a anestesia geral foi induzida com propofol (5 mg/kg IV). Após indução, os animais foram entubados para manutenção da anestesia com isoflurano 2% diluído em oxigênio. A analgesia foi realizada com solução intratecal de lidocaína (4 mg/kg) e morfina (0,2 mg/kg). Anti-inflamatório meloxicam (0,1 mg/kg) foi administrado via intramuscular a cada 24 horas por 4 dias após o procedimento.

A laparoscopia foi realizada a partir do acesso femoral para coleta de biópsias hepáticas utilizando uma pinça endoscópica de 2 mm. Amostras foram obtidas de ambos os lobos hepáticos, fixadas em formalina tamponada a 10% para avaliação histopatológica.

Histopatologia do Tecido Hepático

Amostras de biópsia hepática foram processadas para inclusão em parafina e coradas com Hematoxilina e Eosina (H&E) para análise histológica básica, incluindo a avaliação da vacuolização hepatocelular. Colorações com Tricrômico de Masson e Ácido Periódico

de Schiff (*PAS*) foram utilizadas para avaliar a fibrose hepática e a deposição de glicogênio, respectivamente. Todas as lâminas foram revisadas por dois patologistas veterinários experientes, realizando uma avaliação duplo-cega.

Estatística

As análises estatísticas foram realizadas nos softwares GraphPad Prism v8.0 e JAMOV v2.6. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para comparação das variáveis contínuas entre estações, utilizaram-se os testes t pareado (dados paramétricos) ou Wilcoxon (não paramétricos); para comparação entre sexos, aplicaram-se o teste t não pareado com correção de Welch (paramétricos) ou Mann-Whitney (não paramétricos). A análise da massa corpórea, com mais de duas aferições, foi realizada por ANOVA de medidas repetidas seguida de teste de Tukey (paramétricos) ou teste de Friedman com pós-teste de Dunn (não paramétricos). As correlações foram calculadas pelos testes de Pearson ou Spearman, conforme a distribuição dos dados. O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Massa corporal

Não houve diferença significativa na massa corporal entre os sexos ou estações, mas fêmeas apresentaram variação entre agosto/2024 e fevereiro/2025 ($P=0,0244$).

Hemograma e Parâmetros bioquímicos

No verão, ambos os sexos apresentaram aumento significativo de leucócitos, linfócitos e monócitos. Machos mostraram maior CHCM e heterófilos, e fêmeas maior PPT.

O verão foi associado a aumentos de PT, albumina, globulina, triglicérides, cálcio e amilase. Fêmeas apresentaram significativamente maiores concentrações de colesterol, triglicérides, cálcio e fósforo.

Tomografia Computadorizada

No verão, fêmeas apresentaram significativa redução de HU hepático, de 14 HU no inverno para -7 HU; $P=0,0051$. Machos não apresentaram diferenças significativas entre os períodos.

Fêmeas apresentaram maior gordura subcarapacial em comparação com os machos (mediana 11%; $P=0,0077$).

Correlações negativas foram observadas entre HU hepático e gordura subcarapacial ($Rho=-0,7667$; $P<0,0001$), sugerindo que animais com maior reserva gordurosa apresentaram valores mais baixos de atenuação hepática. Da mesma forma, animais com maiores concentrações de gordura intra-hepática na reconstrução 3D, apresentaram menores valores de HU ($Rho=-0,8219$; $P<0,0001$).

Histopatologia hepática

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os sexos na análise geral dos achados histopatológicos. No entanto, a comparação entre os períodos sazonais revelou mudanças no grau das lesões hepáticas, distintas entre fêmeas e machos.

No verão, fêmeas mostraram maior acúmulo de glicogênio ($P<0,0001$), inflamação portal ($P=0,0313$) e necrose ($P=0,0078$), com redução da fibrose ($P=0,0273$). Apesar do maior grau de micro e macro vacuolização nas fêmeas durante o verão, essa medida não foi estatisticamente significativa. Machos mostraram significativos aumentos de micro e macro vacuolização e glicogênio ($P<0,0001$, $P=0,0358$ e $P<0,0001$, respectivamente), mas redução da balonização ($P=0,0014$). Nenhuma amostra apresentou arquitetura hepática preservada, sugerindo que todos os animais avaliados mantinham algum grau de degeneração hepática.

Correlações entre exames

Gordura subcarapacial correlacionou-se positivamente com triglicérides ($Rho=0,665$) e colesterol ($Rho=0,649$). Fragmentos de biópsia flutuantes na celioscopia correlacionaram-se com menores HU ($Rho=-0,770$) e maior % de gordura subcarapacial ($Rho=0,755$). Além disso, animais que apresentaram fígado mais esbranquiçado em sua superfície e colorações mais acinzentadas da víscera tiveram correlação com maior grau de fibrose hepática na avaliação histopatológica ($P<0,0001$; $r=0,635$).

DISCUSSÃO

A sazonalidade demonstrou exercer influência significativa sobre o metabolismo hepático de *Chelonoidis carbonaria*, especialmente nas fêmeas. Estas se mostraram mais propensas ao acúmulo de gordura hepática e subcarapacial, com destaque para o período do verão. O aumento concomitante de glicogênio e lipídeos observado nesta estação sugere uma resposta fisiológica ao maior consumo de carboidratos, possivelmente relacionado à preparação para a reprodução.

O estrogênio, principal hormônio reprodutivo nas fêmeas de testudines, é fundamental para a regulação do metabolismo energético. Essa influência se dá principalmente pelo estímulo à vitelogênese, processo em que o fígado passa a produzir vitelogenina, uma lipoproteína que será utilizada no desenvolvimento dos folículos ovarianos.¹ Neste processo, ocorre maior demanda por aminoácidos, lipídios e glicose, justificando as alterações nos perfis bioquímicos, como o aumento de proteína plasmática total, colesterol, triglicerídeos e cálcio nesse período.

Paralelamente, o estrogênio promove a mobilização de lipídios do tecido adiposo periférico para o fígado, o que pode resultar em acúmulo intracelular e vacuolizações hepáticas (lipidose), como a observada nesse estudo com jabutis e também em Dragões-barbados por Barboza et al. (2023).²

Além disso, esse hormônio atua diretamente sobre a lipogênese e a glicogênese hepática, favorecendo tanto o armazenamento de glicose em forma de glicogênio quanto a conversão de glicose em lipídios por meio da lipogênese *de novo*. O que explica, em parte, a elevada frequência de glicogenose hepática observada nas fêmeas de *Chelonoidis carbonaria* durante o verão, coincidindo com o pico reprodutivo da espécie.

Estudos em humanos também sugerem interações similares entre glicogênio hepático e acúmulo lipídico. Em uma análise conduzida por Soon e Torbenson (2023), foi observada a presença de hepatócitos glicogenados em até 54% dos casos de esteato-hepatite não alcoólica (NAFLD), com padrão de distribuição predominantemente centrolobular. Os autores propuseram que o acúmulo de glicogênio poderia ocorrer como consequência da desregulação metabólica entre as vias de metabolismo de carboidratos e lipídios, com um desvio da síntese de glicose para glicogênio e redução da lipogênese *de novo*. Ainda no estudo de Soon, pacientes com maior grau de glicogenose apresentaram redução do grau de esteatose hepática. No presente estudo, a disposição do glicogênio hepático nos jabutis mostrou padrão semelhante ao descrito por Soon, maior na zona centrolobular, sugerindo que em répteis essa associação também pode ocorrer.

A interação entre os estímulos reprodutivos mediados pelo estrogênio, o aumento da taxa metabólica dos répteis em ambientes mais quentes e a maior ingestão alimentar contribuem de forma sinérgica para as alterações observadas. Como resultado, foi

registrada elevação nos níveis de colesterol, triglicerídeos, cálcio e fósforo nas fêmeas no verão, além de marcante redução dos valores de HU hepático e aumento da % de gordura subcarapacial.

Esses dados reforçam a hipótese de que, durante o período reprodutivo, há um redirecionamento das reservas energéticas corporais para o fígado, intensificando os processos de síntese e acúmulo de substâncias energéticas (triglicérides e glicogênio), sob forte influência hormonal.

CONCLUSÃO

A tomografia computadorizada mostrou-se uma ferramenta promissora para triagem de lipidose hepática. No entanto, a redução dos valores de HU não está exclusivamente associada ao acúmulo de lipídios, uma vez que outros fatores, como a presença de glicogênio, água ou fibrose, também influenciam a atenuação do tecido. Dessa forma, embora o HU represente uma estratégia útil para triagem inicial, a confirmação diagnóstica de esteatose ou outras lesões hepáticas requer investigação histopatológica detalhada.

A histologia permanece como o método padrão-ouro para avaliação do parênquima hepático, porém o uso de técnicas histoquímicas convencionais (H&E, TM e PAS) pode não ser suficiente para concluir o diagnóstico de lipidose. Em tecidos com alterações degenerativas avançadas, a análise morfológica e a metodologia por exclusão se tornam limitadas, sendo imprescindível o uso de técnicas específicas para a detecção e quantificação precisa de lipídeos. Quando procedimentos histoquímicos especiais não estão disponíveis, sugere-se avaliação conjunta dos resultados tomográficos e histopatológicos.

Por fim, a correlação observada entre as medidas de HU hepático, os parâmetros bioquímicos séricos e os achados histopatológicos respaldam mais uma vez o uso integrado dessas abordagens para a avaliação hepática em quelônios.

REFERÊNCIAS

1. BLANVILLAIN, G.; OWENS, D. W.; KUCHLING, G. Hormones and Reproductive Cycles in Turtles. In: NORRIS, David O.; LOPEZ, Kelley H. (Eds.). **Hormones and**

- Reproduction of Vertebrates.** Volume 3: Reptiles. Cambridge, Massachusetts: Elsevier, 2011. cap. 10, p. 277-303.
2. BARBOZA, T., BEAUFRERE, H., REAVILL, D. and SUSTA, L. Morphological features of hepatic lipid changes in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) and proposed grading system. **Veterinary Pathology**. 2023. V.60, n.1, p.123– 132.
 3. CAMPBELL, T.W. Hematology of Reptiles. In: THARALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2nd ed. Ames IO John Wiley & Sons, 2012. p.277-296.
 4. DERICKSON, W. K. Lipid Storage and Utilization in Reptiles. **American Zoologist**, v. 16, p. 711-723, 1976.
 5. DIVERS, S. J.; STAHL, S. J. and CAMUS, A. Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and kidney biopsy in freshwater turtles (*Trachemys scripta*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 41(4): 677–687, 2010.
 6. DUGGAN, A. *et al.* Seasonal variation in plasma lipids, lipoproteins, apolipoprotein A-I and vitellogenin in the freshwater turtle, *Chrysemys picta*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology**, n. 130, p. 253–269, 2001.
 7. EATWELL, K. Comparison of total calcium, ionised calcium and albumin concentrations in the plasma of captive tortoises (*Testudo* species). **Veterinary Record**, v. 165, p. 466–468, 2009.
 8. GUMPENBERGER, M. *et al.* Use of computed tomography to diagnose hepatic lipidosis in reptiles. In: PROC ASSOC REPT AMPH VET, EUA, 2011. p. 174–176.
 9. LEWBART, G. A. *et al.* Biochemistry and hematology parameters of the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chathamensis*). **Conservation Physiology**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2018.
 10. LAGARDE, F. *et al.* Plasma steroid and nutrient levels during the active season in wild *Testudo horsfieldi*. **General and Comparative Endocrinology**, 134, 139–146, 2003.
 11. LI, Y.-Y. *et al.* Hepatocytic ballooning in non-alcoholic steatohepatitis: dilemmas and future directions. **Liver International**, v. 43, n. 6, p. 1170–1182, 2023.
 12. NARDINI, G., *et al.* Evaluation of liver parenchyma and perfusion using dynamic contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced

- ultrasonography in captive green iguanas (*Iguana iguana*) under general anesthesia. **BMC Veterinary Research**. V. 10, p.112-121, 2014.
13. OLIVEIRA, A. S. et al. Effects of fasting and refeeding on the metabolic functions of the turtle *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) raised in captivity. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, São Luís, MA, v. 33, n. 8, p. 1041-1044, 2013.
 14. PRICE, E. R. The physiology of lipid storage and use in reptiles. **Biological Reviews**, Cambridge, p. 000-000, 2016.
 15. SCHILDGER, B. J. *et al.* Endoscopic Examination of the Pleuro-Peritoneal Cavity in Reptiles. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**. V. 8, N. 3, p. 130-138, 1999.
 16. SILVA, R. S. M. and MIGLIORINI, R. H. Effects of starvation and refeeding on energy-linked metabolic processes in the turtle (*Phrynops hilarii*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 96A, p. 415–419, 1990.
 17. SOON, G. S. T. and TORBENSON, M. The Liver and Glycogen: In Sickness and in Health. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 6133, 2023.
 18. SYKES, J.M. and KLAPHAKE, E. Reptile Hematology. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, n.18, p.63-82, 2015.
 19. WIBBELS, T. *et al.* Seasonal changes in gonadal steroid concentrations associated with migration, mating, and nesting in loggerhead sea turtles. **General and Comparative Endocrinology**, v. 79, p. 154–164, 1990.

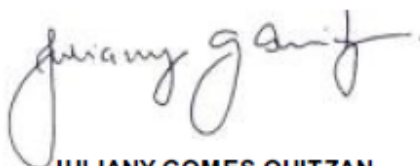
ANEXO 1

ATESTADO

Atesto que o Projeto "AS VARIAÇÕES SAZONAIS PODEM INFLUENCIAR NOS NÍVEIS DE INFILTRADO GORDUROSO HEPÁTICO EM TESTUDINES?" **Protocolo CEUA 0350/2023**, a ser conduzido por Luna Scarpari Rolim, responsável/orientador Maria Jaqueline Mamprim, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	01/04/2023 a 30/06/2024
Nome Comum / Espécie / Linhagem	REPTIL / CHELONOIDIS /
Raça	
Nº de animais machos	8
Nº de animais fêmeas	8
Nº de animais sexo indefinido	4
Peso médio de animais machos	6kg
Peso médio de animais fêmeas	7kg
Peso médio de animais sexo indefinido	3kg
Idade	4 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	CEMPAS - FMVZ UNESP Campus Botucatu

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 03/04/2023



JULIANY GOMES QUITZAN
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

ANEXO 2: Morfometria e Peso dos testudines estudados

TABELA 15: Dados da morfometria e massa corpórea média dos cágados avaliados no presente estudo.

Identificação Animal			Massa corpórea	Morfometria de Carapaça (cm)		
ID	Espécie	Sexo	Kg	CRC	LRC	HC
F1	<i>Trachemys dorbigni</i>	Fêmea	1,10	19,57	15,42	8,33
F2	<i>Trachemys dorbigni</i>	Fêmea	1,81	21,22	16,11	9,51
F3	<i>Trachemys dorbigni</i>	Fêmea	2,56	24,47	18,41	10,16
F4	<i>Trachemys sp</i>	Fêmea	1,19	18,77	15,36	8,18
F5	<i>Trachemys sp</i>	Fêmea	1,48	20,13	15,8	8,68
F6	<i>Trachemys sp</i>	Fêmea	1,41	19,25	15,93	8,02
F7	<i>Trachemys sp</i>	Fêmea	2,75	25,43	19,99	10,57
F8	<i>Trachemys dorbigni</i>	Fêmea	1,10	18,73	15,96	7,69
M1	<i>Trachemys dorbigni</i>	Macho	1,03	19,45	14,59	8,06
M2	<i>Trachemys dorbigni</i>	Macho	0,71	16,64	12,5	6,46
M3	<i>Trachemys dorbigni</i>	Macho	0,85	17,32	13,69	7,29
M4	<i>Trachemys sp</i>	Macho	0,80	17,2	12,98	6,49
M5	<i>Trachemys sp</i>	Macho	0,87	18,25	14,49	6,6
M6	<i>Trachemys sp</i>	Macho	0,79	16,73	13,78	6,66
M7	<i>Trachemys dorbigni</i>	Macho	1,10	19,32	15	8,31

*CRC= Comprimento Retilíneo de Carapaça; LRC= Largura Retilínea de Carapaça; HC= Altura de Carapaça;

TABELA 16: Análise descritiva dos dados sobre morfometria e massa corpórea de Jabutis-piranga (*Chelonoidis carbonaria*) avaliados no presente estudo.

	Machos				Fêmeas			
	Peso	Morfometria de Carapaça (cm)			Peso	Morfometria de Carapaça (cm)		
	Kg	CRC	LRC	CRC	Kg	CRC	LRC	HC
Média	4,1	28,07	16,74	12,52	4,5	28,63	18,06	13,65
Mediana	4,0	27,65	17,06	12,06	4,2	28,4	17,1	13,47
Menor	1,8	21,17	13,11	9,89	2	24,7	14,55	10,98
Maior	9,1	34,94	22,11	16,72	8,5	36	21,62	17,78

*CRC= Comprimento Retilíneo de Carapaça; LRC= Largura Retilínea de Carapaça; HC= Altura de Carapaça;

ANEXO 3: TABELA 17. Valores de hemograma e leucograma determinados por estudos com cágados do gênero *Trachemys* sp.

Estudo		Medeiros et al. (2012)	Velásquez et al. (2014)	Stein et al. (2015)	Gradela et al. (2017)		Hernandez et al. (2017)				Hidalgo-Vila et al. (2020)		Silva et al. (2024)		
Espécie		<i>T. scripta elegans</i>	<i>T. callirostris</i>	<i>T. dorbigni</i>	<i>T. scripta</i>	<i>T. dorbigni</i>	<i>T. scripta scripta</i>				<i>T. scripta scripta</i>		<i>T. dorbigni</i>		
N		24	69 (31m+38f)	29 (11f+4m)	28	22	30 (17m+13f)				4	26	16 (3m+13f)		
Estado de saúde		Não conhecido	-	Saudáveis	Saudáveis		Saudáveis				Saudáveis	Doentes	Não conhecido		
Origem		<i>Ex situ</i>	<i>Ex situ e In situ</i>	<i>In situ</i>	<i>Ex situ</i>		<i>Ex situ</i>				<i>In situ</i>		<i>In situ</i>		
Período		-	Verão 28°C	Verão	Inverno	Um ano		Verão 25-32°C		Inverno 16-22°C		Vários anos		Um ano	
Sexo		Ambos	Fêmeas	Machos	Ambos	Ambos	Ambos	Ambos	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Ambos	Ambos	Ambos
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	Min	0,38	0,86	0,75	0,323	0,286	3,89	3,33	0,56	0,57	0,56	0,57	0,29	0,1	0,47
	Máx	0,68	1,06	0,99	0,537	0,488	9,09	8,13	0,58	0,58	0,57	0,57	0,58	0,6	
Hb (g/dL)	Min	52	2,55	2	3,81	2,61	5,65	5,17	98	90	93	94	-	-	5,3
	Máx	90	5,35	4,8	4,99	4,69	10,05	9,97	120	110	116	126	-	-	
VCM (fL)	Min	-	323	318,2	342,57	411,58	26,29	31,63	433,3	400	384,6	356,4	-	-	428,99
	Máx	-	341,6	335	543,05	564,04	53,49	51,83	532,1	458,3	504,5	484,9	-	-	
CHCM (g/dL)	Min	-	33,14	33,6	21,52	18,33	33,19	28,3	404	410	450	430	-	-	-
	Máx	-	51,14	50,2	25,86	21,65	33,59	36,5	442	438	511	486	-	-	
Hematócrito (%)	Min	31	29,59	24,8	15,22	12,86	21,35	19,81	22	22	19	19	22,5	8,2	19,63
	Máx	53	34,21	31,64	22,36	23,86	25,73	25,56	27	26	25	28	32,3	34,7	
PPT (g/dL)	Min	1,38	-	-	1,45	1,6	-	-	3,6	2,8	2,8	3	-	-	4,05
	Máx	4,4	-	-	3,31	3,4	-	-	5,3	4,7	4,8	4,4	-	-	
Trombócitos (x10 ⁹ /L)	Min	-	13,1	7,8	-	-	-	-	24	32	31,25	40	-	-	-
	Máx	-	22,7	14,8	-	-	-	-	50	51	44,95	47	-	-	
Leucocitos (x10 ⁹ /L)	Min	6,61	9	6,5	2,68	3,55	3,22	3,1	4	4,25	4,25	4,75	2,3	0,9	8,25
	Máx	21,05	19,8	12,3	6,1	6,58	4,33	4,09	7,25	7,5	8	7,5	5,2	7,9	
Heterofilos (%)	Min	31	28	19,7	6,59	12,86	-	-	45,5	45	28,5	25,5	31	39	31
	Máx	53	35	27,35	19,11	23,86	-	-	55	50,5	47	37	82	98	
Linfócitos (%)	Min	5	25,03	28,5	5,398	5,57	-	-	8,5	7,5	10,5	11	0	2	10
	Máx	15	31,12	37,5	16,022	15,57	-	-	10,5	9,5	15	14	11	48	
Eosinófilos (%)	Min	27	19,7	20,34	31	34,67	-	-	9,5	10	7	7,5	0	0	43
	Máx	47	25,5	25,34	51,28	53,17	-	-	16,5	14	13,5	17	58	32	
Basófilos (%)	Min	1	2,48	2,2	16,63	15,25	-	-	23	19,5	27,5	32,5	0	0	9
	Máx	9	4,52	5,2	41,37	32,03	-	-	29,5	30	39	46,5	0	2	
Monocitos (%)	Min	4	13	12,8	3,44	1,15	-	-	1,5	3	2,5	3,5	0	0	6
	Máx	13	15,6	19,82	9,12	10,69	-	-	4,5	4	5	7	11	20	

