

**Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento**

Sabrina Domingues Leonardo

NÍVEIS BASAIS E INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INTERVALOS DE ALIMENTAÇÃO NAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE, COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS E PROTEÍNAS TOTAIS E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DO FÍGADO EM CASCAVÉIS SUL AMERICANAS (*Crotalus durissus terrificus*)

São José dos Campos, SP

2007

Sabrina Domingues Leonardo

NÍVEIS BASAIS E INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INTERVALOS DE ALIMENTAÇÃO NAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE, COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS E PROTEÍNAS TOTAIS E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DO FÍGADO EM CASCAVÉIS SUL AMERICANAS (*Crotalus durissus terrificus*)

Dissertação apresentada no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Cogo

Co-orientador: Prof. Dr. Stephen Hyslop

São José dos Campos, SP

2007

L596a

Leonardo, Sabrina Domingues

Níveis basais e influência de diferentes intervalos de alimentação nas concentrações de glicose, colesterol, triglicerídeos e proteínas totais e atividades enzimáticas do fígado em cascavéis Sul Americanas (*Crotalus durissus terrificus*) / Sabrina Domingues Leonardo. São José dos Campos: Univap, 2007.

I Disco laser.: color

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento - Universidade do Vale do Paraíba, 2007.

1. *Crotalus durissus terrificus* 2. Serpentes I. Cogo, José Carlos, Orient. II. Hyslop, Stephen, Co-orient. III. Título

CDU: 598.126

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiadores ou transmissão eletrônica.

Assinatura da aluna:



Data: 06/06/2007

**“NÍVEIS BASAIS E INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INTERVALOS DE ALIMENTAÇÃO NAS
CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE, COLESTEROL, TRIGLICERÍDEOS E PROTEÍNAS
TOTAIS E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DO FÍGADO EM CASCAVÉIS SUL AMERICANAS
(Crotalus durissus terrificus)”**

Sabrina Domingues Leonardo

Banca Examinadora:

Profª. Dra. **MARIA REGINA DE AQUINO SILVA** (UNIVAP) 

Prof. Dr. **JOSÉ CARLOS COGO** (UNIVAP) 

Profª. Dra. **JÚLIA FRANCESCHI** (UNICAMP) 

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D – UniVap

Dedico aos meus pais, pelo apoio sem limites.

Ao meu irmão, pelas horas de descontração.

Família: um amor incondicional.

Aos meus mentores espirituais pela presença e proteção.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Carlos Cogo, pelo grande apoio e incentivo fundamentais para o meu desenvolvimento científico. Obrigada pela confiança em mim depositada nestes 6 anos de trabalho no Serpentário.

Ao Prof. Dr. Stephen Hyslop, pela co-orientação, ensinamentos e sugestões pertinentes para a realização deste projeto.

Aos Profs. Dr. Wellington Ribeiro e MsC Antonio Carlos Guimarães Prianti, pela amizade, conselhos, trocas de idéias e apoio em vários momentos.

As Profas. Dra. Stella Zamuner e MsC Tatiana Cunha pelas horas dispensadas à revisões, sugestões e críticas; por todo o carinho e gentileza.

Ao Rafael Aduato, por me ensinar as técnicas para as análises bioquímicas, pela presteza em realizar alguns testes de última hora e principalmente pelas horas de descontração através das nossas conversas sobre livros e filmes.

Aos monitores e estagiários do Serpentário: Marcelo, Rodolfo, Milena e Tiago, o trabalho é árduo e muitas vezes braçal, mas que geraram momentos divertidos e memoráveis.

Aos meus amigos, pelas palavras de incentivo e muita compreensão nos momentos de ausência.

A CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa que permitiu a realização do meu Mestrado desde o início.

"A necessidade é a melhor mestra e guia da natureza. A necessidade é terna e inventora, o eterno freio e lei da natureza."

Leonardo da Vinci

NÍVEIS BASAIS E INFLUÊNCIA DE DIFERENTES INTERVALOS DE ALIMENTAÇÃO NAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE, COLESTEROL, TRIGLICERÍDIOS E PROTEÍNAS TOTAIS E ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DO FÍGADO EM CASCAVÉIS SUL AMERICANAS (*Crotalus durissus terrificus*)

RESUMO

Pesquisas sobre a biologia de serpentes no Brasil são restritas, embora seja o país com maior biodiversidade em relação à América Central e do Sul. Um melhor entendimento das adaptações fisiológicas e bioquímicas que envolvem a capacidade de passar períodos irregulares sem alimentação, é fundamental para a compreensão dos mecanismos e estratégias ecológicas aplicadas por estes animais, frente às adversidades da natureza. Desta forma, este trabalho visou realizar uma análise bioquímica de substâncias relacionadas à alimentação (glicose, colesterol, triglicerídios, proteínas totais, AST e ALT) presentes no sangue da serpente *Crotalus durissus terrificus* em cativeiro com intervalos de privação alimentar. Foram estudadas 45 serpentes adultas, mantidas no Serpentário do Centro de Estudos da Natureza (CEN) na Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP. Os animais foram separados e permaneceram isolados em solários que reproduzem o tipo de habitat utilizado pela espécie na natureza com vegetação, água e abrigo; formando 3 grupos experimentais (N=15) com alimentação controlada: grupo 1 (alimentação quinzenal - controle) grupo 2 (alim. mensal) e grupo 3 (alim. a cada 45 dias). A coleta sanguínea seguiu duas formas distintas: antes do oferecimento do alimento (jejum) N=10 para cada grupo e após a alimentação nos intervalos de tempo: 2, 4 e 14h, N = 5 respectivamente; durante o período de 10 meses. O sangue foi coletado com as serpentes devidamente contidas e sem o uso de anestésicos. As amostras de cada indivíduo, cerca de 2mL, foram centrifugadas e em seguida realizadas as determinações das atividades enzimáticas acima descritas. As serpentes receberam a mesma quantidade e tipo de alimentação, e ficaram sujeitas as mesmas condições ambientais. Durante o período observado seguiram com suas atividades diárias de termorregulação e locomoção. Os níveis de atividade enzimática permaneceram estáveis para o período de privação alimentar (15, 30 e 45d), independente do sexo ou grupo experimental analisado. Para as coletas pós-prandiais (2,4 e 14h) observou-se um aumento nos níveis de glicose, colesterol, triglicerídios, ALT e AST para os tempos de 2 e 4 horas, voltando ao nível basal dentro de 14h. Somente os níveis de Proteínas Totais mantiveram-se estáveis para observações antes e pós-alimentação. Através destes resultados obtidos podemos afirmar que as serpentes, através de adaptação fisiológica e bioquímica mantêm estabilidade metabólica mesmo em longos períodos de privação alimentar.

Palavras-chave: sangue, metabolismo, bioquímica, *Crotalus durissus terrificus*.

Resting levels and influence of different feeding intervals on serum glucose, total cholesterol, triglycerides and protein concentrations, and liver enzyme activities, in South American rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*)

ABSTRACT

Snakes are well-known for their ability to withstand prolonged periods without feeding. In this work, we examined the influence of different feeding intervals on a variety of blood parameters (proteins, glucose, total cholesterol, triglycerides, aspartate aminotransferase - AST and alanine aminotransferase - ALT) in the South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*. Forty-five adult snakes of both sexes were randomly allocated to one of three experimental groups (n=15 each) that were fed mice at intervals of 15 (group 1), 30 (group 2) and 45 (group 3) days over a 10-month period. Venous blood samples were obtained at the start of the experiment (basal) and immediately before feeding; in snakes fed at 15-day intervals, blood samples were also obtained 2, 4 and 14 h post-feeding. Serum samples were obtained by centrifugation and analyzed on the same day for protein, glucose and lipid (triglycerides and total cholesterol) content, as well as ALT and AST activities. There were no significant changes in any of these parameters at any of the feeding intervals when compared with the basal values obtained at the start of the experiment. In contrast, in snakes fed at 15-day intervals, there was a significant increase in serum glucose, cholesterol, triglycerides, ALT and AST at 2 h and 4 h post-feeding that returned to basal after 14 h; serum protein levels were unaltered in these three intervals. These results are the first such data for *C. d. terrificus* and indicate that feeding intervals of up to 45 days have no significant influence on the blood parameters investigated. The changes seen in the early hours following feeding are probably associated with digestion.

Key words: blood biochemistry, diet, metabolism, *Crotalus durissus terrificus*, South American rattlesnake.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Exemplar de <i>Crotalus durissus terrificus</i> (cascavel), mantida no Serpentário do CEN.....	09
Figura 2 –	Vista de um dos seis solários nos quais as serpentes permaneceram em isolamento.....	17
Figura 3 –	Sistematização do experimento 1, com coletas sanguíneas pós-prandiais.....	18
Figura 4 –	Sistematização do experimento 2, onde as coletas sanguíneas foram realizadas com as serpentes em jejum, antes do oferecimento do alimento.....	19
Figura 5 –	Contentor utilizado para as coletas sanguíneas da espécie <i>Crotalus durissus terrificus</i> (Foto: Marcelo Henrique Mello Barreiro).....	20
Figura 6 –	Venopunção da veia caudal realizada nas serpentes da espécie <i>Crotalus durissus terrificus</i> (Foto: Marcelo Henrique Mello Barreiro).....	21
Figura 7 –	Valores obtidos para Glicose durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). A - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), B - Grupo 2: alimentação mensal, C - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p>0,05$ (ANOVA).....	26
Figura 8 –	Valores obtidos para Colesterol durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). A - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), B - Grupo 2: alimentação mensal, C - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p>0,05$ (ANOVA).....	27
Figura 9 –	Valores obtidos para Proteínas Totais durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). A - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle) $p>0,05$, B - Grupo 2: alimentação mensal, houve significância estatística para os tempos: 120, 150 e 240 dias $p<0,001$ em relação aos demais dias de coleta. C - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias $p>0,05$. Valores: Média \pm E.P.M. (ANOVA).....	28

Figura 10 –	Valores obtidos para ALT durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). A - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), B - Grupo 2: alimentação mensal, C - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p>0,05$ (ANOVA).....	29
Figura 11 –	Valores obtidos para AST durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). A - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), B - Grupo 2: alimentação mensal, C - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p>0,05$ (ANOVA).....	30
Tabela I	Porcentagem de aumento das atividades enzimáticas para as coletas pós-prandiais (Experimento 1) em relação ao controle.....	24

SUMÁRIO

1 Introdução.....	01
2 Revisão Bibliográfica.....	03
2.1 Serpentes: Aspectos gerais.....	03
2.2 Biologia de serpentes.....	05
2.3 Classificação das serpentes peçonhentas brasileiras.....	07
2.3.1 Gênero <i>Crotalus</i> (Linnaeus, 1758).....	07
2.3.1.1 <i>Crotalus durissus terrificus</i> (Laurenti, 1768).....	08
2.4 Fisiologia de serpentes.....	09
2.4.1 Mecanismo fisiológico da alimentação.....	09
2.4.2 Termorregulação.....	11
2.4.3 Sangues e seus compostos.....	12
2.4.3.1 Transporte de nutrientes no sangue.....	13
3 Objetivo.....	15
3.1 Objetivo específico.....	15
4 Material e Métodos.....	16
4.1 Local de estudos.....	16
4.2 Material biológico.....	16
4.3 Comitê de ética.....	16
4.4 Tempo de observação.....	17
4.5 Manejo dos animais.....	17
4.6 Grupos experimentais.....	18
4.7 Coleta das amostras.....	20
4.7.1 Imobilização dos animais.....	20
4.7.2 Coleta das amostras sanguíneas.....	20
4.8 Análises estatísticas.....	22

5 Resultados.....	23
6 Discussão.....	31
7 Conclusão.....	37
Referências Bibliográficas.....	38
Anexo A - Comitê de Ética.....	42
Anexo B - Fichas com numeração de microchip dos animais.....	43

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a fauna e a flora mais ricas de toda a América Central e do Sul. Entretanto, de acordo com a literatura científica, observa-se que existe um pequeno número de estudos acerca da biologia de algumas espécies animais, como por exemplo, as serpentes. Somando-se a isto, observamos que as investigações envolvendo serpentes brasileiras estão, em grande parte, restritas à avaliação da toxicidade e ação dos venenos de espécies de interesse médico. Mas precisamos ir além, buscando o entendimento da sua biologia e incrível capacidade de adaptação fisiológica, uma das chaves do sucesso deste grupo.

Pela incerteza de encontrar fontes alimentícias na natureza, as serpentes estão constantemente sujeitas a longos períodos de privação alimentar. Entretanto, assim como todas as espécies animais, estas necessitam de substratos energéticos provenientes da alimentação para se manterem vivas. Sendo assim, observa-se que este grupo de animais possui notável capacidade de manutenção do equilíbrio do meio interno, frente a constantes desafios apresentados pelas necessidades metabólicas e por estímulos provenientes do meio externo, fatores que garantem sua sobrevivência.

A estabilidade diante de alterações ambientais é assegurada por uma série de ajustes bioquímicos, fisiológicos e comportamentais apresentados por estes animais. Sabe-se também que além do comportamento alimentar, a maneira como regula sua temperatura corporal e a forma com que seu organismo se ajusta e regula o aproveitamento dos substratos energéticos após a ingestão de alimento ou nos períodos de afagia, são fundamentais para controlar o metabolismo e gasto de energia deste grupo.

O entendimento destes fatores permite compreender os mecanismos e estratégias ecológicas aplicadas por estes animais frente às adversidades da natureza.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi verificar as respostas fisiológicas e bioquímicas através da análise das concentrações sanguíneas de glicose, colesterol, triglicerídeos, proteínas totais e atividade enzimática de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) em serpentes da espécie *Crotalus durissus terrificus* frente a diferentes períodos de privação alimentar.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Serpentes: Aspectos gerais

As serpentes fazem parte de um grupo único de animais, possuindo características que as diferem dos demais membros da Classe Reptilia como: corpo alongado e coberto por escamas, ápodes e ausência de cintura escapular. Além disto, observa-se que uma reestruturação morfológica foi necessária para estabelecer sua locomoção, com alongamentos de elementos musculares e desenvolvimento de cadeia muscular multissegmental. O grande número de vértebras (entre 120 a 240) interligadas promove maior flexibilidade (MARQUES; ETEROVIC; SAZIMA, 2001; MOSMANN, 2001; MELGAREJO, 2003).

As escamas córneas possuem formas, texturas e tamanhos diversos e, em alguns casos, adaptadas para funções específicas. Periodicamente trocam de pele, através da renovação da camada de queratina que recobre as escamas, processo este conhecido como ecdise (PUORTO, 2001).

As serpentes não possuem pálpebras móveis ou capacidade auditiva.

Seus dentes não apresentam raiz, sendo fixados somente em depressões superficiais dos ossos dentários e como são delicados costumam danificar-se, e são trocados por outros novos. Além disto, modificações nos ossos da cabeça conferem extensibilidade da boca possibilitando a ingestão de animais relativamente maiores ou mais volumosos que o seu corpo (BORGES, 1999; BARRAVIEIRA, 1999; MOSMANN, 2001; MELGAREJO, 2003).

Outro aspecto importante, relacionado à estrutura da cabeça e alimentação, diz respeito à forma de captura do alimento. Nesta etapa evolutiva surgem as

glândulas de veneno e presas inoculadoras. Assim, classificamos quatro estágios evolutivos levando em conta as adaptações morfológicas sofridas pela dentição:

- **Áglifas:** não há presença de presas capazes de inocular veneno, os dentes são todos maciços e nesta categoria encontramos serpentes homodontes (com todos os dentes iguais) e heterodontes (com alguns dentes alongados).

- **Opistóglifas:** presença de um ou mais dentes modificados na parte posterior da maxila. Estas presas possuem sulcos longitudinais dos quais, por capilaridade, escorre veneno de uma glândula especializada denominada Duvernoy.

- **Proteróglifas:** as presas, neste tipo de dentição, estão localizadas na parte anterior da maxila, o dente é fixo e possui um canal que não é completamente fechado, mas conectado com a glândula de veneno.

- **Solenóglifas:** neste tipo de dentição, as presas são grandes, agudas e ocas, além de muito especializadas. Estão localizadas na parte anterior da maxila, paralelas ao crânio e alcançam 90° no momento do bote para inocular veneno.

Por este conjunto de características ímpares, as serpentes espalharam-se com sucesso pelos cinco continentes, somando no mundo aproximadamente 2.900 espécies conhecidas. Habitando assim diversos tipos de ambientes sejam selvas, desertos, regiões montanhosas, ilhas, rios e mesmo no mar, até próximo do círculo polar ártico (BARRAVIEIRA, 1999; MOSMANN, 2001; MUSEU INST. BUTANTAN, 2001).

2.2 Biologia de serpentes

As serpentes podem ocupar certos locais e habitats dentro de um ambiente e serem ativas durante o dia, à noite ou até mesmo durante os dois períodos. Uma mesma serpente pode estar ativa em locais distintos, ao longo do seu período de atividade: procura de abrigo, forrageio ou termorregulação (MARQUES; SAZIMA, 2003).

A utilização freqüente de determinado habitat e suas características morfológicas ajudam no reconhecimento dos ambientes mais explorados:

- **Terrícolas:** Forrageiam e procuram abrigo preferencialmente no solo. Possuem morfologia e coloração variadas.

- **Aquáticas:** Utilizam à água ou locais próximos para procurar alimento, abrigando-se neste mesmo ambiente ou no solo. Os olhos e narinas localizam-se próximos a extremidade da cabeça.

- **Arborícolas:** Preferem desenvolver suas atividades (caça e abrigo) sobre a vegetação. Apresentam corpo delgado, cauda longa e olhos grandes; os tons de verde na coloração predominam na maioria das espécies deste grupo.

- **Subterrâneas ou fossórias:** Forrageiam e abrigam-se sob o solo ou folheto, dentro de troncos ou embaixo de pedras. Possuem olhos pequenos e cauda curta.

A visão apresenta graus de desenvolvimento nos diferentes grupos, mas em geral não é eficiente. Podemos dizer que as serpentes são míopes e desta forma são mais atentas à detecção de objetos em movimentos do que de formas, ou seja, um objeto parado na sua frente não é percebido (MARQUES; SAZIMA, 2003). Assim, o órgão de sentido mais desenvolvido é o olfato. A língua fina e bífida lançada constante e rapidamente para fora da boca capta as partículas químicas

flutuantes no ar, levando-as em seguida ao Órgão de Jacobson, uma estrutura quimiorreceptora na parte anterior do céu da boca recoberta por um epitélio sensorial. De modo simplificado, as serpentes sentem o cheiro através da língua (SCHWENK, 1995; FRANCISCO, 1997; MARTÍNEZ-MARCOS; LANUZA; HALPERN, 2002).

Algumas serpentes como os viperídeos, boídeos e a maior parte dos pitonídeos são capazes de detectar imagens infravermelhas do corpo dos animais endotérmicos graças a termorreceptores localizados na cabeça sob a forma de fossetas, mais precisamente um par entre os olhos e a narina nos viperídeos ou inúmeras situada nos lábios das boas e pítons (BRAZAITIS; WATANABE, 1993; BARRAVIEIRA, 1999; CAMPBELL, et al., 2002).

Exclusivamente carnívoras, alimentam-se de animais que vivem em seu habitat, como roedores, pequenos mamíferos, pequenos lagartos, peixes, anfíbios, aves e seus ovos, lesmas e caracóis, crustáceos, outras serpentes (ofiófagas) e outros pequenos animais compatíveis com sua capacidade de degluti-los (SAZINA; MARTINS, 1990; SILVA, 2000). Utilizando técnicas como inoculação de veneno, constrição ou as duas ações combinadas, as serpentes não conseguem arrancar pedaços ou mastigar o alimento, engolindo-os então por inteiro. Com ajuda de eficientes enzimas digestivas digerem quase completamente a presa, com exceção das partes queratinizadas (BELLUOMINI; HOGE, 1957; MOSMANN, 2001; PUORTO, 2001).

2.3 Classificação das serpentes peçonhentas brasileiras

No Brasil conhecemos cerca de 326 espécies; agrupadas em 9 famílias, cerca de 49 destas espécies são peçonhentas (SBH, 2005).

As serpentes peçonhentas pertencem a 2 famílias: Elapidae e Viperidae. A família Elapidae no Brasil é representada por 2 gêneros: *Leptomicrurus* e *Micrurus*, este último, gênero principal e composto pelas conhecidas popularmente corais verdadeiras. Os representantes da família Viperidae (subfamília *Crotalinae*) pertencem aos gêneros *Bothrops*, *Bothriopsis* e *Bothrocophias*, normalmente chamadas de “jararacas”; *Lachesis*, considerada uma das maiores serpentes peçonhentas da América e conhecida popularmente como surucucu ou pico-de-jaca; e por último o gênero *Crotalus*, representado pelas cascavéis (GRANTS AU, 1991; MELGAREJO, 2003).

2.3.1 Gênero *Crotalus* (Linnaeus, 1758)

As serpentes deste gênero, composto por 26 espécies, correspondem as popularmente chamadas: cascavel, boicininga ou maracambóia; são terrestres, de corpo robusto e pouco ágil (AMARAL, 1977; CAMPBELL; LAMAR, 1989).

Distribuem-se exclusivamente por todo o Continente Americano. Na América do Sul a espécie predominante é a *Crotalus durissus* (CAMPBELL; LAMAR, 1989).

No Brasil as 5 subespécies (*C. d. terrificus*, *C. d. cascavella*, *C. d. collilineatus*, *C. d. ruruima* e *C. d. marajoensis*), podem ser encontradas conforme sua ampla distribuição geográfica em campos abertos, áreas secas, arenosas e pedregosas e raramente na faixa litorânea (espécie invasora); não ocorrendo em florestas subtropicais e Pantanal (GRANTS AU, 1991; BARRAVIERA, 1999; PUORTO, 2001).

2.3.1.1 *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti, 1768)

Serpente de porte robusto (Figura 1) e com comprimento médio de 1,0 m alimenta-se especialmente de pequenos roedores. A cascavel é vivípara, parindo de 18 a 30 filhotes uma vez por ano, durante o verão (AMARAL, 1977; CAMPBELL; LAMAR, 1989; LEONARDO et al., 2002).

Possui coloração muito variável mesmo nas próprias subespécies; cor olivacinzenta, oliva, marrom-cinzenta até marrom com manchas romboédricas pela linha dorsal, manchas com margens brancas e centro mais claro; lado ventral branco-amarelado até cinzento-amarelado; ponta da cauda com chocalho, que em momento de excitação produz um ruído; possui 167-185 placas ventrais (GRANTSAU, 1991).

Quanto à sua distribuição geográfica, encontram-se nas zonas altas e secas do Brasil sul oriental e meridional, desde o Rio Grande do Sul até Minas Gerais, áreas abertas dos estados do Mato Grosso do Sul, Roraima, Amazonas e é a subespécie mais encontrada no Estado de São Paulo (PETERS; OREJAS-MIRANDA, 1970; AMARAL, 1977; GRANTSAU, 1991; BARRAVEIRA, 1999).



Figura 1: Exemplar de *Crotalus durissus terrificus* (cascavel), mantida no Serpentário do CEN.

2.4 Fisiologia de serpentes

2.4.1 Mecanismo fisiológico da alimentação

Serpentes são exclusivamente carnívoras e por modificações anatômicas como estrutura, disposição, mobilidade dos ossos e capacidade de distensão dos tecidos ingerem a presa por inteiro. Graças a esta habilidade, conseguem alimentar-se de presas maiores que elas mesmas em intervalos irregulares, muitas vezes com longos períodos entre as ingestões (SAZIMA; MARTINS, 1990; FRANCINI et al., 1993).

Serpentes que empregam o modo “sit-and-wait” ao invés de uma postura mais ativa para o forrageamento são mais suscetíveis a passar por estes períodos irregulares de afagia, confiando em suas reservas energéticas para as atividades metabólicas enquanto esperam por uma próxima refeição (SECOR, 2005).

A ingestão de alimento aumenta o metabolismo e está correlacionada com a manutenção da temperatura corpórea, como são animais ectotérmicos necessitam realizar termorregulação seja pela exposição à radiação solar como fonte externa de calor ou através de produção metabólica como fonte de calor interna. As duas fontes podem ser utilizadas simultaneamente, mas a radiação solar representa uma fonte econômica para a absorção de energia (FRANCINI et al., 1993; SCHMIDT-NIELSEN, 1996; BARRAVIERA, 1999).

A digestão em serpentes requer uma reorganização morfológica do intervalo gastrointestinal, acompanhada de mudanças na ventilação do pulmão e alterações de gases no sangue arterial e no status ácido-base. Estas mudanças fisiológicas associadas com a alimentação podem persistir por períodos prolongados enquanto a

digestão prosseguir; durando por 10 dias ou mais (TATTERSALL et al., 2004; SECOR, 2005).

Após iniciada à digestão e absorção, a forma como o corpo processa suas fontes energéticas pode variar de acordo com o estado nutricional ou necessidade de cada indivíduo (ABE; CRUPI, 1993; SCHMIDT-NIELSEN, 1996).

Sob a perspectiva ecológica, a digestão impõe um período de reclusão em suas habilidades defensivas e locomotoras, por se tratar de uma fase dispendiosa energeticamente relacionada à predação (TATTERSALL et al., 2004).

Além disto, as condições climáticas ocasionalmente trazem adversidade as suas próprias atividades. A estação seca ou inverno rigoroso determinam um período de inatividade e este padrão traz uma série de implicações fisiológicas na ecologia dos répteis (ABE; CRUPI, 1993; PUORTO, 2001).

As serpentes possuem aptidão para estocar reservas energéticas principalmente na forma de gordura que são acumuladas em quantidade suficiente durante a estação de atividade, além disto, devem completar o ciclo reprodutivo que requer grande dispêndio energético, principalmente para as fêmeas (ABE; CRUPI, 1993; TATTERSALL et al., 2004).

Quanto mais eficientemente um animal captura e usa as fontes de energia disponíveis em seu ambiente, mais será capaz de competir com outros membros de sua espécie e maior será a capacidade adaptativa de espécie em um sentido evolucionário (HARDY, 1981; FRANCINI et al., 1993; SECOR, 2005).

2.4.2 Termorregulação

A temperatura é um dos principais fatores limitantes em uma grande variedade de processos biológicos, desde a velocidade de simples reações químicas até a distribuição ecológica de uma espécie animal (HARDY, 1981).

O intercambio de energia entre um animal e seu ambiente é complexo, mas em sua forma mais simples, inclui, por um lado, o aproveitamento da energia química contida na dieta e, por outro lado, o intercambio de calor com o ambiente, determinado pelos processos físicos de condução, convecção, radiação e evaporação (SCHIMIDT-NIELSEN, 1988; RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 1997).

As serpentes são subordinadas a seus ambientes, já que suas atividades e até mesmo sua sobrevivência estão permanentemente sujeitas à temperatura prevalecente. Seja pela exposição direta ao sol ou indiretamente como preferem algumas espécies que escolhem locais com mosaicos ensolarados e sombreados, a termorregulação é fundamental para a realização das diversas atividades biológicas como locomoção, forrageio, digestão, entre outros (MOSMANN, 2001; POUGH et al., 2001).

Desta forma, as alterações do ritmo metabólico estão diretamente ligadas à temperatura corporal e conseqüentemente à temperatura ambiental (HARDY, 1981; FRANCINI et al., 1993; RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 1997).

2.4.3 Sangue e seus compostos

O sangue é uma suspensão de células (um tecido líquido) em uma matriz de proteínas e sais, e é tão importante para a circulação como o coração ou os vasos sanguíneos. A parte líquida do sangue contém uma série de proteínas, muitas das quais envolvidas no processo de coagulação; este líquido denomina-se plasma.

Quando o processo de coagulação se completa, com a utilização do fibrinogênio para a formação do coágulo (fibrina), o líquido passa a denomina-se soro (NOGUEIRA et al., 1990; DAVIES; BLAKELEY; KIDD, 2002).

Estudos hematológicos em répteis são escassos, além de ainda existir polêmica quanto à nomenclatura das células sangüíneas desta Classe; e quando se trata da nossa ofidiofauna poucos trabalhos podem ser citados. As células comumente encontradas no sangue de serpentes são eritrócitos, trombócitos e leucócitos. Os eritrócitos destes animais são elípticos e nucleados, sendo as suas formas imaturas (eritroblastos) encontradas em pequena quantidade e mais arredondadas, com núcleo maior e citoplasma um pouco basofílico (GREGO et al., 2006).

O sangue utilizado para as análises bioquímicas é coletado das veias, artérias e capilares. Para a maioria das provas, o local de flebotomia não tem importância analítica ou fisiológica, razão pela qual se utiliza o sangue venoso, devido à facilidade de obtenção (NOGUEIRA et al., 1990).

A maioria das análises é realizada no soro, pois se pressupõe que a distribuição entre a fração celular e extracelular da maioria dos componentes é aproximadamente a mesma, mas para a determinação de algumas substâncias torna-se necessário inibir a coagulação do sangue através do uso de anticoagulantes, obtendo-se assim o plasma (NOGUEIRA et al., 1990).

2.4.3.1 Transporte de nutrientes no sangue

A corrente sanguínea é responsável por transportar diversas substâncias necessárias para cada célula do organismo, incluindo oxigênio, glicose,

aminoácidos, ácidos graxos e vários lipídios, entre outros. O sangue também remove o dióxido de carbono e outros produtos resultantes do metabolismo de cada célula, como ácido lático, resíduos nitrogenados e calor; enviando-os ao pulmão, rim ou fígado, onde serão eliminados (GUYTON, 1998).

O sistema cardiovascular também transporta água e eletrólitos, incluindo sódio, potássio, cálcio, hidrogênio, bicarbonato e íons cloreto; os mensageiros químicos, os hormônios, que são sintetizados e liberados pelas células de um órgão e são carregados por intermédio da corrente sanguínea a outras células num outro órgão, alterando sua função (SCHIMIDT-NIELSEN, 1988; GUYTON, 1998; DAVIES; BLAKELEY; KIDD, 2002).

A condução das substâncias nutritivas ocorre a partir do canal intestinal para as células, mas antes de alcançá-las os produtos da digestão percorrem o líquido intersticial e entram na circulação sanguínea ou linfática. Uma grande variedade de moléculas serve como nutrientes, entre eles carboidratos, lipídios e proteínas (RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 1997).

- **Carboidratos:** São usados primariamente como fontes imediatas (glicose-6-fosfato) ou como estoque (glicogênio) de energia química; podem ser convertidos também em gorduras. As principais fontes de carboidratos são açúcares, amido e celulose, encontrados nas plantas.

- **Lipídios:** Participam na formação das membranas celulares e são adequadas para reserva concentrada de energia. Cada grama de gordura fornece mais de duas vezes a quantidade de energia calórica que os carboidratos ou proteínas. As moléculas “gordurosas” incluem ácidos graxos, monoglicerídios, triglicerídeos, esteróis e fosfolipídios.

- **Proteínas:** São utilizadas como componentes estruturais de tecidos, enzimas, função hormonal (insulina), defesa (anticorpos) ou até mesmo fonte de energia, após ser degradadas em aminoácidos. A capacidade de sintetizar aminoácidos difere de acordo com a espécie.

3 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi realizar análise sanguínea de substâncias relacionadas à alimentação, frente a diferentes tempos de privação alimentar, em serpentes da espécie *Crotalus durissus terrificus* mantidas em cativeiro.

3.1 Objetivo específico

Avaliar as concentrações sanguíneas de glicose, colesterol, triglicerídeos, proteínas totais, além das atividades de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) em serpentes submetidas a diferentes tempos de privação alimentar, durante o período de 10 meses.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de estudos

Este estudo foi desenvolvido no Serpentário pertencente ao Criadouro Conservacionista, Registro IBAMA nº. 1/35/2000/001399-1, localizado no Centro de Estudos da Natureza – CEN, e no Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D – Laboratório de Fisiologia e Farmacologia; Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP, campus Urbanova / Jacareí-SP.

4.2 Material biológico

Foram utilizadas 45 serpentes da espécie *Crotalus durissus terrificus*, sendo 22 machos e 23 fêmeas microchipadas (microchip de 12 x 2 mm - modelo ISO FDX-B, empresa AnimallTAG®) de tamanho semelhante e pesando em média 450 g, provenientes da região do Vale do Paraíba encaminhadas ao Serpentário do Centro de Estudos da Natureza – CEN.

4.3 Comitê de Ética

A pesquisa seguiu os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA/1991) e as Normas para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de Animais (Lei 6638/1979), com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – UNIVAP, protocolo nº L205/2005/CEP (Anexo A).

4.4 Tempo de observação

Os animais permaneceram em isolamento para observações e coleta de dados por um período total de 10 meses.

4.5 Manejo dos animais

As serpentes foram mantidas em solários com divisórias (Figura 2), separando assim cada grupo experimental por sexo. Cada solário reproduz o hábitat utilizado pela espécie na natureza, com vegetação, espelho d'água e abrigos. O manejo foi realizado com a ajuda de gancho e tambor para transporte, seguindo o procedimento padrão de segurança aplicado no Serpentário.

Todas as serpentes possuem microchip com numeração individual (Anexo B). Nos dias estipulados para a coleta sanguínea os animais foram identificados com a ajuda de um leitor digital modelo KT34/13, linha animais silvestres da empresa AnimalITAG®.



Figura 2: Vista parcial de um dos solários onde as serpentes permaneceram em isolamento.

4.6 Grupos experimentais

Foram selecionadas 45 serpentes (ambos os sexos) para a realização de 2 experimentos. Cada serpente dos grupos mistos, recebeu como alimentação 2 camundongos adultos (linhagem Swiss), dentro dos intervalos de tempo determinados abaixo:

Experimento 1 – Parâmetros bioquímicos pós-prandiais

As serpentes (N = 15) foram alimentadas no mesmo tempo e a coleta sanguínea realizada 2, 4 e 14 horas após a alimentação (Figura 3).

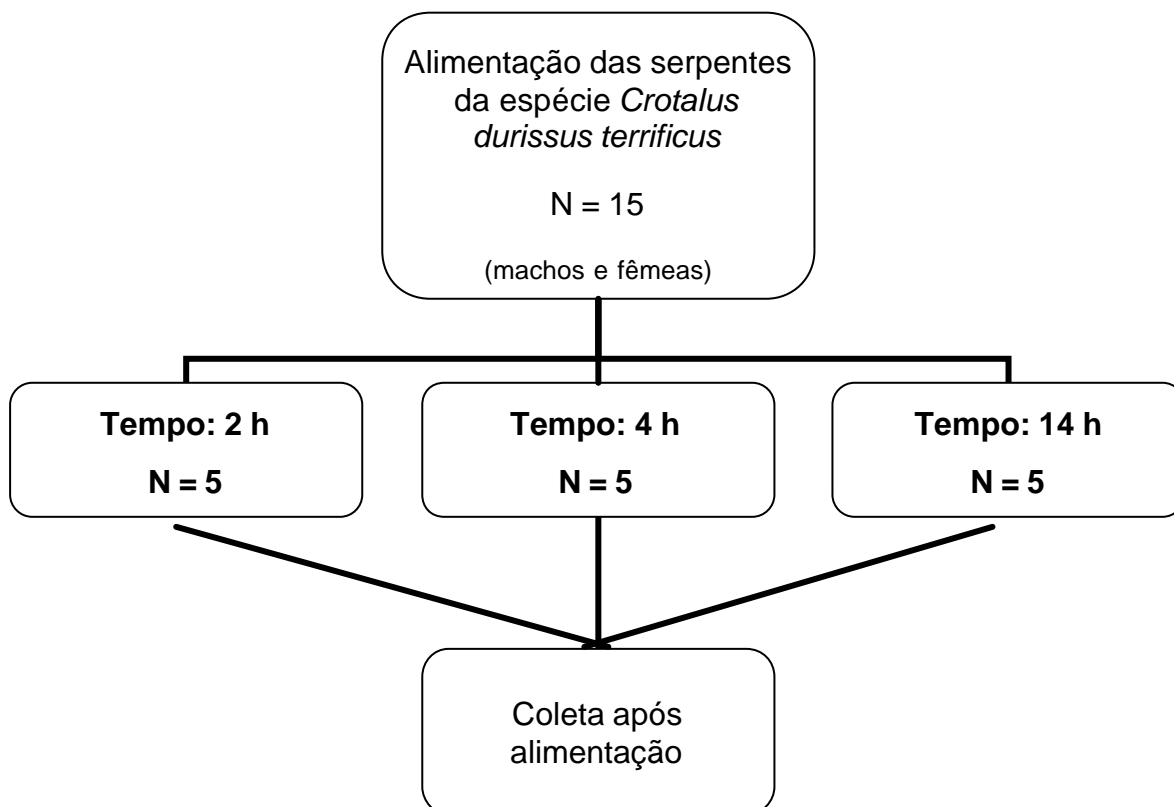


Figura 3: Sistematização do experimento 1, com coletas sanguíneas pós-prandiais.

Experimento 2 – Parâmetros bioquímicos frente a diferentes períodos de jejum prolongado

Todas as serpentes (N = 30) foram alimentadas simultaneamente, e depois divididas em 3 grupos experimentais, respeitando os seguintes intervalos de jejum:

Grupo 1: Alimentação quinzenal (N = 10) - grupo controle (C)

Grupo 2: Alimentação mensal (N = 10)

Grupo 3: Alimentação a cada 45 dias (N = 10)

Imediatamente antes da alimentação subsequente, foi coletada uma amostra sangüínea para realização das análises bioquímicas (Figura 4).

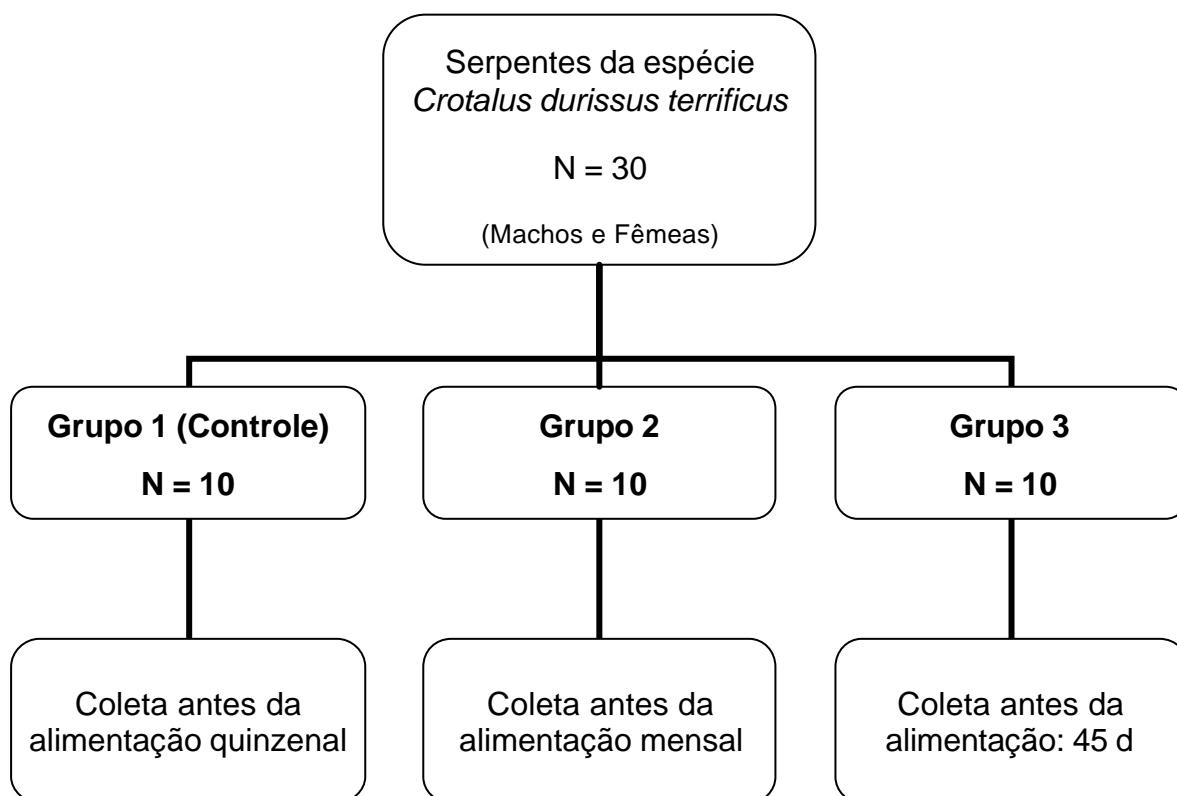


Figura 4: Sistematização do experimento 2, onde as coletas sangüíneas foram realizadas com as serpentes em jejum, antes do oferecimento do alimento.

4.7 Coleta das Amostras

4.7.1 Imobilização dos animais

As serpentes foram imobilizadas com auxílio de um contentor com base plástica, quatro pontos de amarras fixadas com velcro e tampa protetora acrílica, ficando somente com a cauda livre (Figura 5).



Figura 5: Contentor utilizado para as coletas sanguíneas da espécie *Crotalus durissus terrificus* (Foto: Marcelo Henrique Mello Barreiro).

4.7.2 Coleta das amostras sanguíneas

Para coleta do sangue, foi realizada venopunctura via veia caudal, conforme proposto por Frye (1991), com auxílio de seringas plásticas de 3 mL e agulhas de calibre 21x7 mm descartáveis (Figura 6).



Figura 6: Venopunção da veia caudal realizada nas serpentes da espécie *Crotalus durissus terrificus* (Foto: Marcelo Henrique Mello Barreiro).

As amostras de cada animal (aproximadamente 2 mL) foram transferidas para dois ependorfs: o primeiro com anticoagulante GS (empresa Laborlab, exclusivo para determinação da glicose) recebeu 0,5 mL de sangue e o segundo ependorf livre de anticoagulantes 1,5 mL. Posteriormente, todas as amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm durante 10 minutos para a obtenção do plasma para a determinação da concentração de glicose e soro para a determinação dos demais parâmetros.

Tanto o plasma quanto o soro foram aliquotados com o auxílio de micropipetas para novos ependorfs devidamente identificados.

Em seguida, foram realizadas as determinações das concentrações de Glicose, Colesterol, Triglicerídeos, Proteínas Totais, e a atividade de ALT e AST, utilizando kits comerciais da empresa Laborlab e leitura em analisador bioquímico semi-automático modelo BIO 2000® da empresa BIOPLUS.

4.8 Análises Estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o programa de informática GraphPad InStat®.

Os resultados foram expressos com a média \pm erro padrão da média (média \pm E.P.M.), sendo que os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5 RESULTADOS

Foram realizadas 38 coletas de sangue dentro do período de 10 meses de observação. As 45 serpentes utilizadas nos diferentes experimentos receberam a mesma quantidade e qualidade de alimentação, assim como ficaram sujeitas as mesmas condições ambientais nos solários destinados a elas.

Durante o período experimental não foram registrados casos de rejeição ou regurgitação de alimento. As serpentes seguiram suas atividades diárias de termorregulação, forrageamento e procura de abrigo.

Experimento 1: Parâmetros bioquímicos pós-prandiais

A Tabela I evidencia a concentração sanguínea de Glicose, Colesterol, Triglicerídeos, Proteínas Totais, e atividade das enzimas ALT e AST para as coletas pós-prandiais. Duas e quatro horas após a alimentação observamos o aumento nas concentrações sanguíneas de Glicose, Colesterol, Triglicerídios, ALT e AST; com retorno aos níveis basais em 14 horas. A concentração de Proteínas Totais não sofreu alterações significativas durante este período.

Cabe ressaltar que não foram observadas diferenças dos parâmetros analisados relacionadas ao sexo dos animais (dados não apresentados).

Tabela I – Porcentagem de aumento das atividades enzimáticas para as coletas pós-prandiais (Experimento 1) em relação ao controle

Parâmetros	Controle	Tempo		
		2 horas	4 horas	14 horas
Glicose	51,6 ± 0,7 mg/dL	64%	65%	0%
Colesterol	199,3 ± 0,3 mg/dL	14%	50%	0%
Triglicerídeos	76,4 ± 1,3 mg/dL	145%	188%	0%
Proteínas Totais	4,6 ± 0,3 g/dL	4%	4%	0%
ALT	5,5 ± 0,4 U/L	59%	96%	0%
AST	31,9 ± 0,8 U/L	37%	37%	0%

Experimento 2 – Parâmetros bioquímicos frente a diferentes períodos de jejum prolongado

Seguindo o delineamento experimental para esta fase, com as coletas sanguíneas sendo realizadas antes do oferecimento do alimento, observamos que os níveis da concentração de Glicose e Colesterol, e as atividades de ALT e AST permaneceram estáveis, sem diferenças significativas durante os períodos de jejum determinados, ou seja, 15, 30 e 45 dias independente do sexo ou grupo experimental analisado, Figuras 7, 8, 10 e 11 respectivamente.

Para o parâmetro bioquímico Proteínas Totais (Figura 9), observou-se nos intervalos de tempo 120, 150 e 240 dias (gráfico B) um aumento estatisticamente significativo em relação às demais mensurações $p < 0,001$.

Glicose

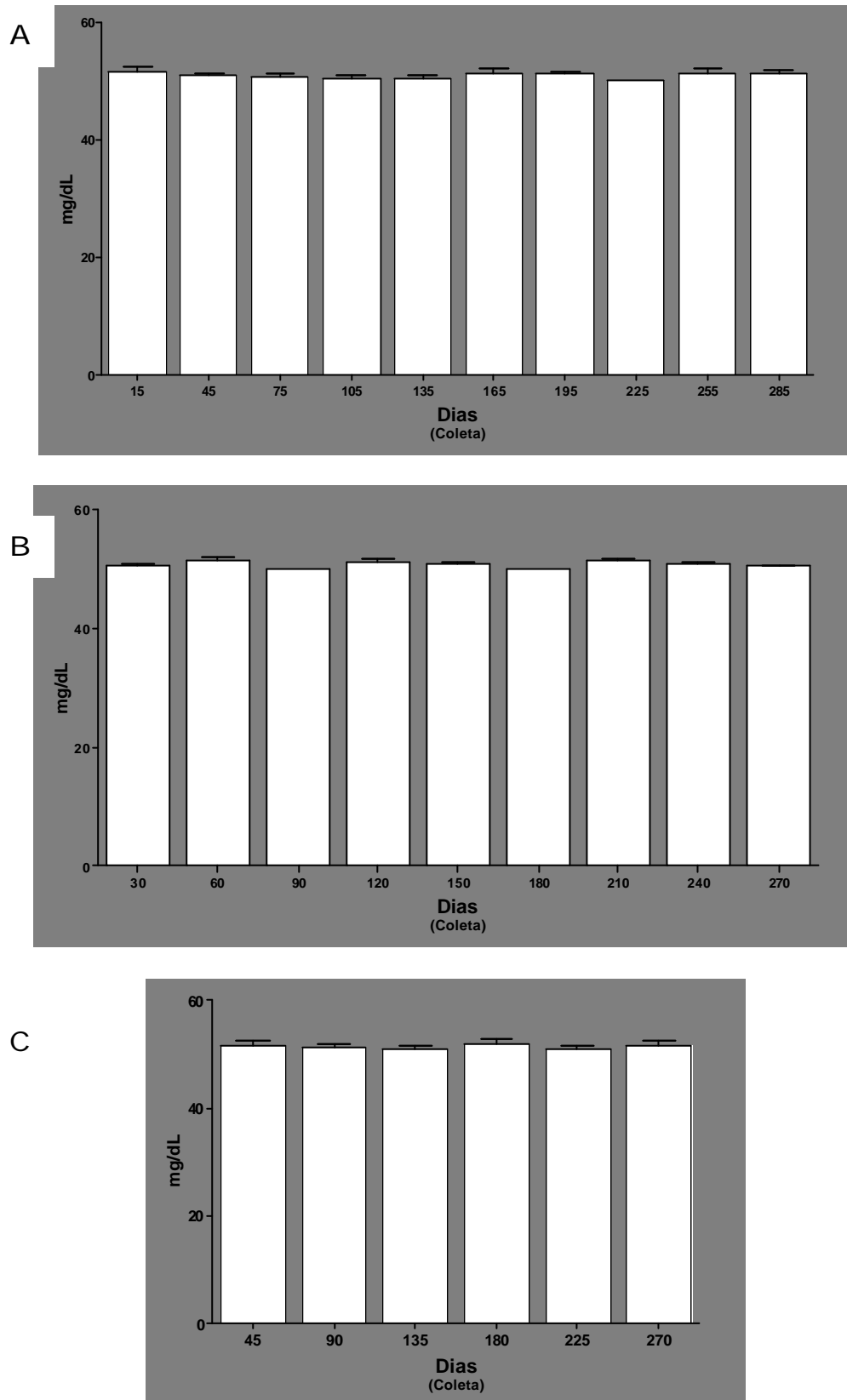


Figura 7: Valores obtidos para Glicose durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). **A** - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), **B** - Grupo 2: alimentação mensal, **C** - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p > 0,05$ (ANOVA).

Colesterol

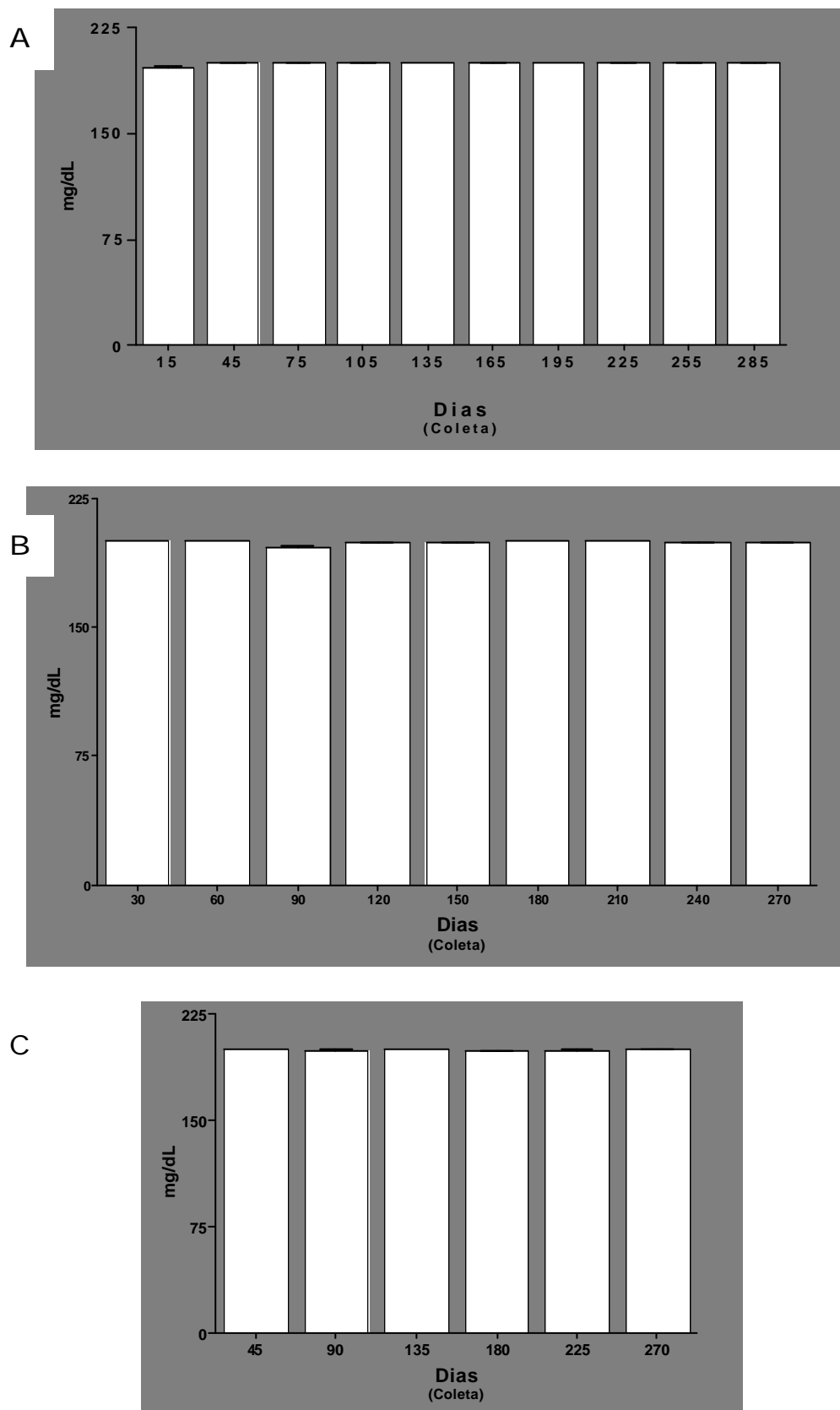


Figura 8: Valores obtidos para Colesterol durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). **A** - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), **B** - Grupo 2: alimentação mensal, **C** - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p > 0,05$ (ANOVA).

Proteínas Totais

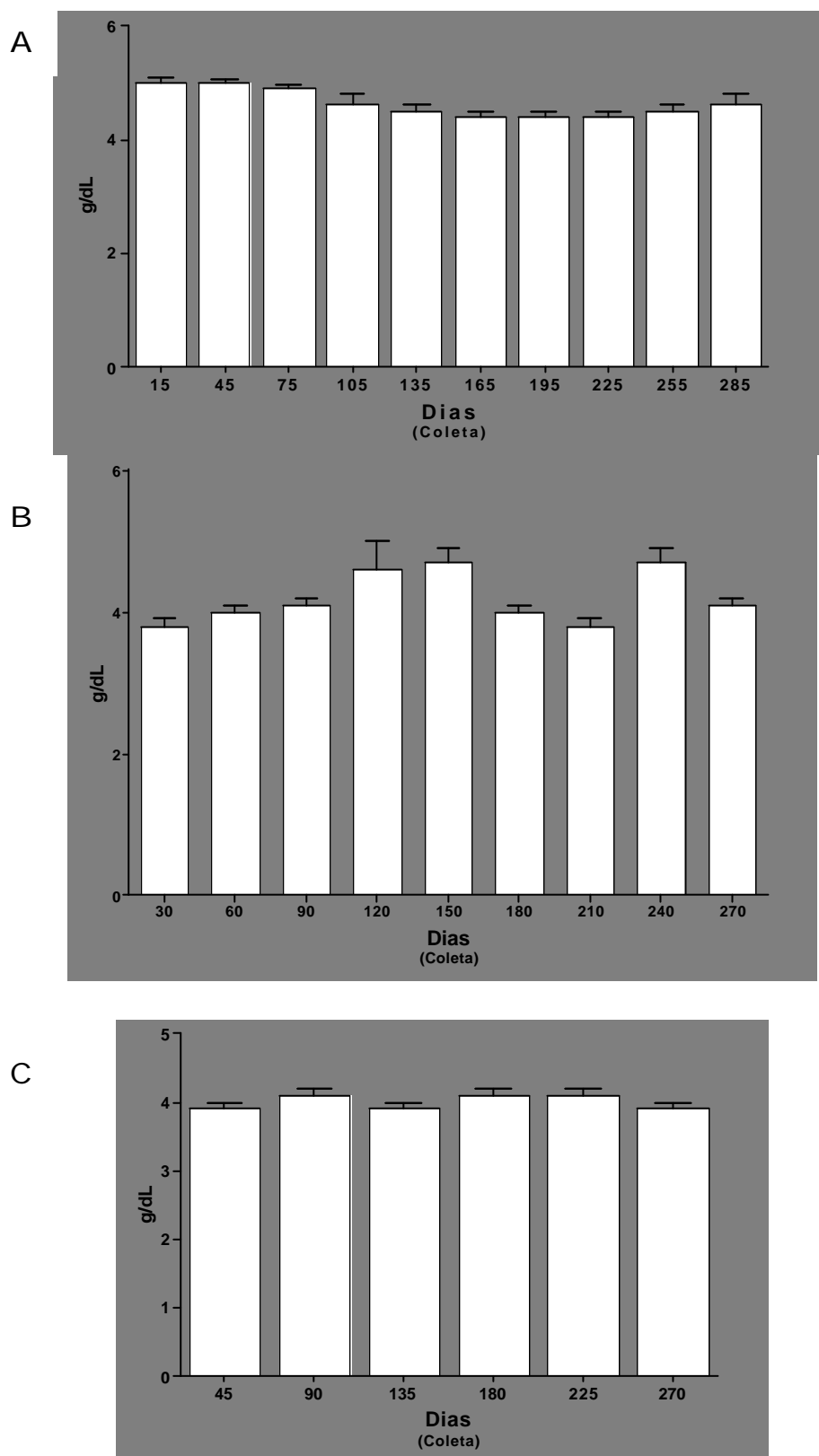


Figura 9: Valores obtidos para Proteínas Totais durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). **A** - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle) $p>0,05$, **B** - Grupo 2: alimentação mensal, houve significância estatística para os tempos: 120, 150 e 240 dias $p<0,001$ em relação aos demais dias de coleta. **C** - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias $p>0,05$. Valores: Média \pm E.P.M. (ANOVA).

ALT

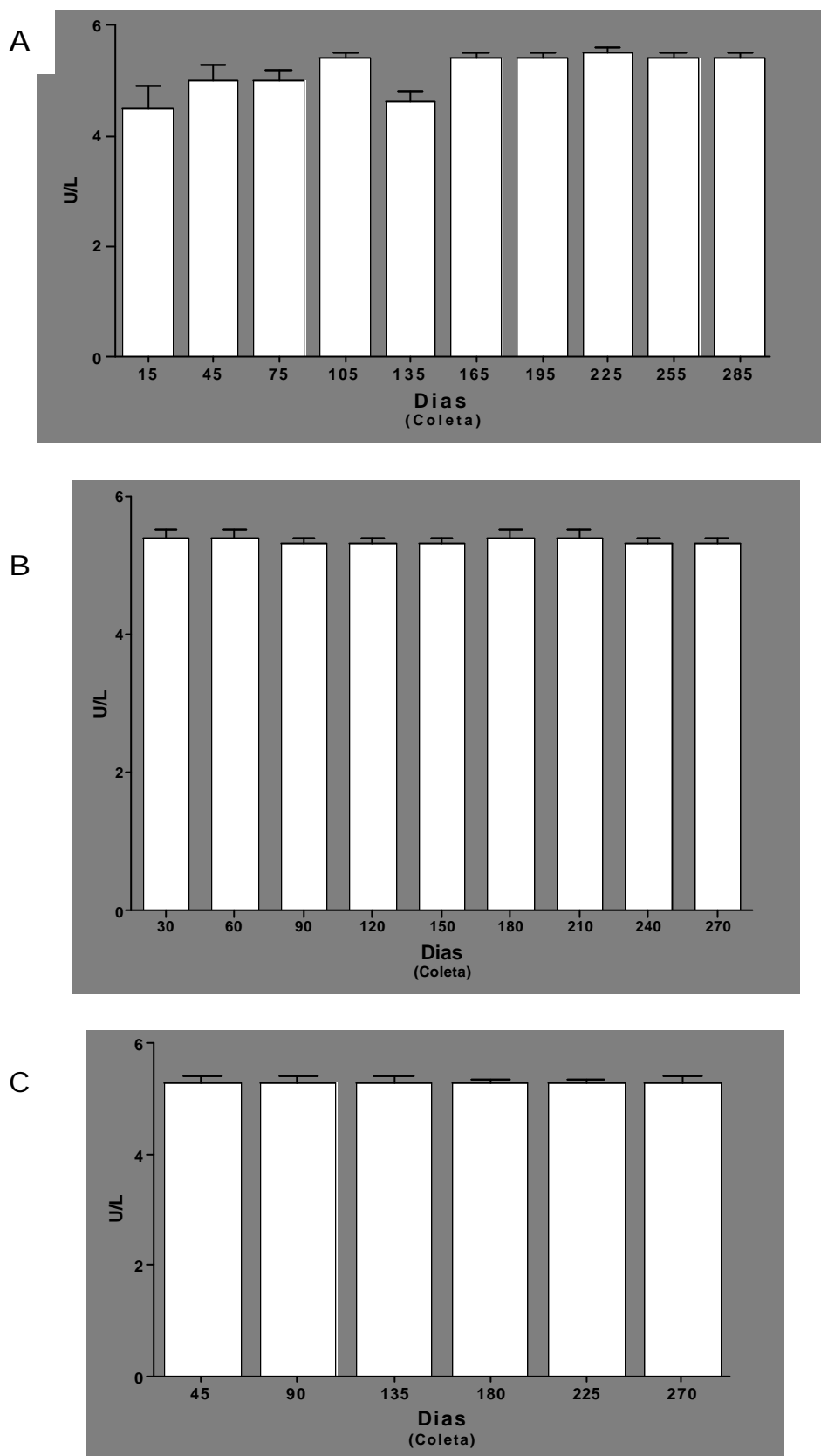


Figura 10: Valores obtidos para ALT durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). **A** - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), **B** - Grupo 2: alimentação mensal, **C** - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p > 0,05$ (ANOVA).

AST

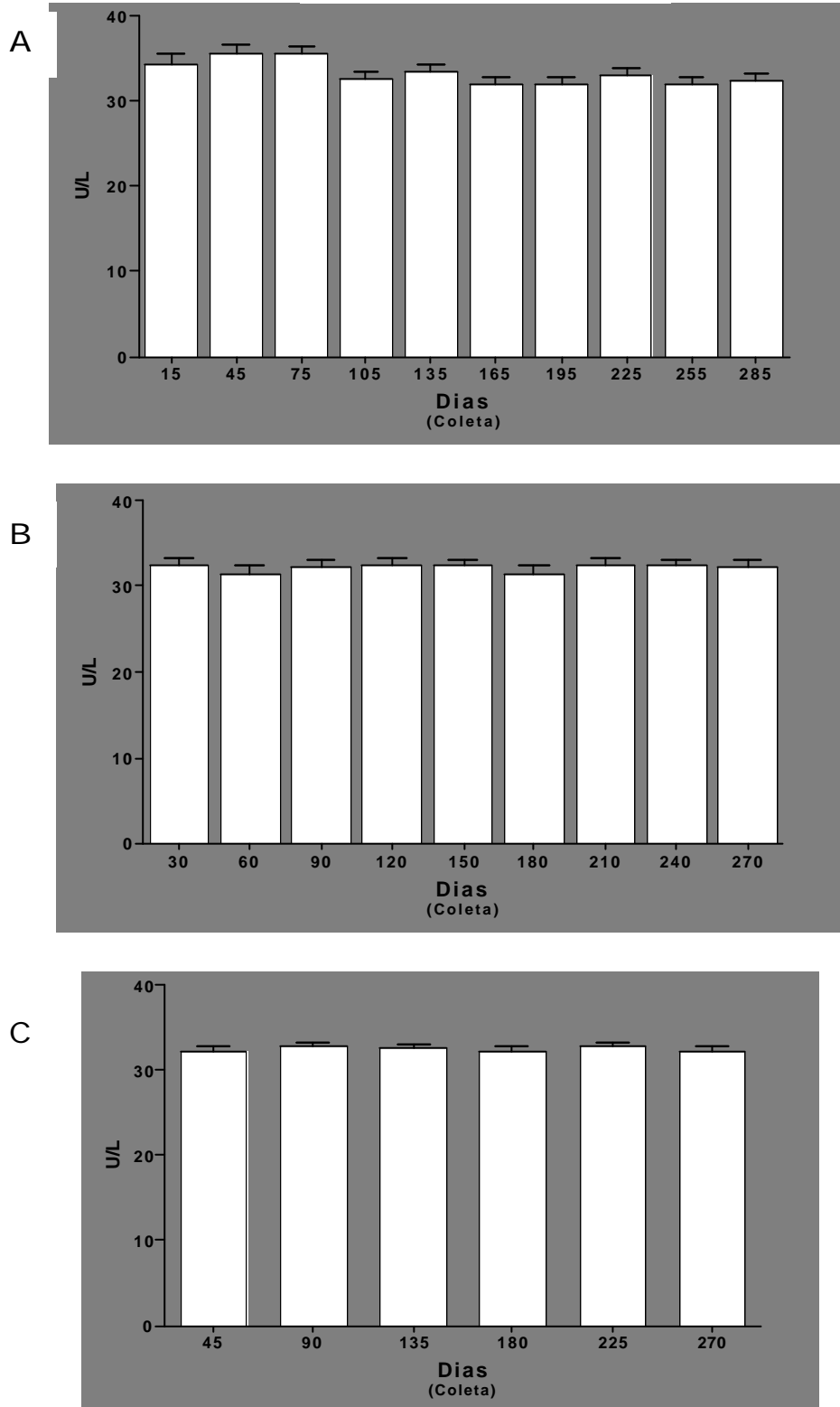


Figura 11: Valores obtidos para AST durante o período experimental de 10 meses, com coletas sanguíneas realizadas antes do oferecimento do alimento, N=10 (por grupo). **A** - Grupo 1: alimentação quinzenal (controle), **B** - Grupo 2: alimentação mensal, **C** - Grupo 3: alimentação a cada 45 dias. Valores: Média \pm E.P.M., $p > 0,05$ (ANOVA).

6 DISCUSSÃO

Todos os seres vivos necessitam de um suprimento energético, que deve ser obtido de fontes externas. Nos animais, os substratos alimentares são necessários para três importantes finalidades: obtenção de energia e material para manutenção, reprodução e promoção de crescimento e síntese de substâncias corpóreas (RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 1997).

A matéria-prima e energia usadas no metabolismo vêm do alimento, mas o que realmente constitui um item alimentar varia muito entre os animais, indo desde moléculas individuais absorvidas através da superfície corpórea, até presas vivas deglutidas inteiras, como fazem as serpentes. A maior parcela desse alimento consiste em três grupos de compostos: carboidratos, lipídios e proteínas. O organismo também exige uma grande variedade de minerais, vitaminas e inúmeros compostos orgânicos (DAVIES; BLAKELEY; KIDD, 2002).

As células necessitam de energia para seu funcionamento, e o combustível utilizado mais comumente é a glicose. O sistema nervoso é quase inteiramente dependente da glicose como substrato energético. Ele é incapaz de sintetizá-la, ou de armazenar quantidades significativas de glicogênio. Desse modo, enquanto outros tecidos podem utilizar fontes alternativas de energia, os níveis sanguíneos de glicose precisam ser mantidos, a fim de assegurar suprimento contínuo de energia para o sistema nervoso (SCHMIDT-NIELSEN, 1988; RANDALL; BURGGREN; FRENCH, 1997).

Tanto a hipoglicemia quanto a hiperglicemia prolongada causam inúmeras disfunções no organismo e podem ser fatais. Desta forma, a homeostasia dos níveis de glicose é essencial para o funcionamento adequado do organismo. Em nosso

estudo, observamos que a concentração plasmática de glicose aumentou após a alimentação, retornando aos valores basais ($51,6 \pm 0,7$ mg/dL) após 14 h. Além disto, observamos que este parâmetro não foi influenciado pelos diferentes regimes de privação alimentar e nem pelo sexo dos animais. Resultados semelhantes foram observados por McCue (2006), ao avaliar a glicemia de cascavéis Norte-Americanas da espécie *Crotalus atrox*, e para esta serpente os valores registrados foram ($115,2 \pm 1,7$ mg/dL), ($45 \pm 0,3$ mg/dL), ($61,2 \pm 0,2$ mg/dL) e ($54,0 \pm 0,4$ mg/dL) para coletas pós-prandiais nos períodos de 0, 56, 112 e 168 dias, respectivamente.

Valores glicêmicos ligeiramente mais altos foram observados por Prado (1946) para outro gênero de serpente viperídea, *Bothrops jararaca*, neste caso observou-se valores diferentes para fêmeas ($59,6 \pm 19,0$ mg/dL) e machos ($67,4 \pm 20,5$ mg/dL); e para a colubrídea *Philodryas patagoniensis* de ambos os sexos ($63,3 \pm 19,4$ mg/dL). O autor constatou ainda, a hiperglicemia em *Philodryas patagoniensis*, mas para os tempos de 1 h ($76,0$ mg/dL) e 2 h ($88,0$ mg/dL) com decréscimo dentro de 24 h.

Allender et al. (2006) realizaram um estudo com outra cascavel Norte Americana, a espécie *Sistrurus catenatus catenatus*, que foram capturadas logo após o período de hibernação; verificando as concentrações de glicose, encontraram os seguintes valores para fêmeas ($50,9 \pm 20,5$ mg/dL) e machos ($90,0 \pm 42,0$ mg/dL).

Pesquisando parâmetros bioquímicos para *Nerodia rhombifera rhombifera*, uma espécie americana de cobra d'água, McDaniel et al. (1984) encontraram o seguinte valor para a glicose ($33,0 \pm 21,0$ mg/dL) sem significância estatística em relação ao sexo dos animais.

Chiodini e Sundberg (1982) trabalharam com *Boa constrictor constrictor* determinaram para ambos os sexos o valor ($34,0 \pm 1,4$ mg/dL), enquanto Johnson e Benson (1996) referenciaram o valor ($28,94 \pm 2,24$ mg/dL) para o também boídeo *Python regius*. Em ambos os trabalhos, as coletas sanguíneas para a determinação da concentração de glicose foram realizadas depois de 24 h do oferecimento do alimento.

Troiano et al. (2001) relataram para a mesma espécie deste estudo, valor glicêmico mais baixo ($23,94 \pm 0,39$ mg/dL). Supomos que esta disparidade esteja relacionada às condições climáticas encontradas no país (Argentina) em que foi realizado o ensaio.

Os lipídios, que incluem triglicerídeos (gorduras), são importantes como depósitos de energia e como constituintes das membranas biológicas. A gordura é comumente estocada no tecido adiposo por animais para períodos de deficiência calórica (SCHMIDT-NIELSEN, 1988; DAVIES; BLAKELEY; KIDD, 2002).

Novamente observamos o aumento na concentração pós-prandiais (experimento 1), com relação ao Colesterol e Triglicerídeos. Neste ensaio, os níveis voltaram ao que consideramos basais dentro de 14 h. No segundo experimento, com as serpentes em jejum prolongado, a concentração sanguínea de colesterol não foi diferente entre os grupos experimentais.

Chiodini e Sundberg (1982) determinaram em análises bioquímicas para o Colesterol ($87,0 \pm 4,0$ mg/dL), valores mais baixos do que encontramos em nosso estudo em relação a este parâmetro ($199,3 \pm 0,3$ mg/dL).

Troiano et al. (2001) determinaram os seguintes valores para Colesterol ($37,26 \pm 0,35$ mg/dL) e Triglicerídeos ($50,4 \pm 0,35$ mg/dL). Nenhum dos valores reportados pelo autor foi semelhante ao que encontramos em nosso estudo.

Trabalhando com uma tartaruga de água doce brasileira da espécie *Podocnemis unifilis* (tracajá), Malta e Nascimento (2005) determinaram os valores para Colesterol ($80,85 \pm 40,78$ mg/dL) e para Triglicerídeos ($105,45 + 89,08$ mg/dL). Mesmo tratando de outro membro da Classe Reptilia, no caso em questão um quelônio, o valor informado para o Colesterol é menor ao que observamos para a serpente *Crotalus durissus terrificus*.

As proteínas formam muitos materiais estruturais como colágeno entre outros; e as enzimas são importantes em quase todas as reações biológicas. Neste parâmetro analisado, Proteínas Totais, observamos pequenas flutuações em sua concentração no experimento 2, para as coletas realizadas no grupo 2 (alimentação a cada 30 dias), com significância estatística nos períodos 130, 150 e 240 dias em relação aos demais dias de coleta dentro do grupo citado.

Chiodini e Sundberg (1982) informaram o valor ($7,0 \pm 0,1$ g/dL); pouco mais alto do que registramos em nossas observações ($4,6 \pm 0,3$ g/dL). No entanto, valores semelhantes foram reportados por: Johnson e Benson (1996) que determinaram ($5,2 \pm 0,60$ g/dL), McDaniel et al. (1984) que verificaram o valor ($5,8 \pm 0,9$ g/dL) e Allender et al. (2006) que verificaram concentração igual a (4.6 ± 0.9 g/dL).

Malta e Nascimento (2005) relataram para Proteínas totais ($4,16 \pm 1,03$ g/dL), valor próximo ao observado em nosso estudo.

Troiano et al. (2001) encontraram valores muito maiores com relação a este parâmetro do que os encontrados por todos os autores citados ou em nosso estudo, sendo ele ($37,9 \pm 4,1$ g/dL).

As aminotransferases, ou transaminases, são enzimas importantes na regulação celular. A enzima ALT é muito utilizada como marcadora na lesão hepática, enquanto a AST localizada no coração, músculo e também fígado é

comumente relacionada com a lesão no miocárdio. O exercício também influencia nos teores de ALT e AST no soro já que um exercício extenuante pode acentuar uma renovação do tecido muscular com degeneração de algumas células originando uma liberação de componentes celulares (TAVARES; DOMINGUES; RIBEIRO, 2006).

Em nosso ensaio experimental 1, os níveis enzimáticos de ALT aumentaram para os tempos de 2 e 4 h, enquanto a AST aumentou somente para tempo de 2 h, permaneceu estável no intervalo de 4 h e; ambas as enzimas voltaram aos níveis basais dentro de 14 h. No experimento 2, com os animais em privação alimentar (jejum) os níveis bioquímicos para estas enzimas, permaneceram inalterados nos 3 grupos (15, 30 e 45 d). Em ambos os experimentos, não registramos diferenças entre os sexos.

Chiodini e Sundberg (1982) determinaram em análises bioquímicas os valores a seguir: ALT ($6,0 \pm 0,7$ U/L) e AST ($8,0 \pm 1,0$ U/L). Em nosso estudo verificamos valores semelhantes para a ALT ($5,5 \pm 0,4$ U/L), mas menores em comparação à AST ($31,9 \pm 0,8$ U/L). Johnson e Benson (1996) relataram para ALT ($13,73 \pm 4,44$ U/L) e AST ($32,75 \pm 21,31$ U/L), enquanto Allender et al. (2006) verificaram para AST ($26,4 \pm 14,9$ U/L). Nestes casos, determinamos valores menores para ALT, mas semelhantes para AST.

Troiano et al. (2001) determinaram os seguintes valores para ALT ($13,0 \pm 4,1$ U/L) e AST ($20,0 \pm 7,6$ U/L). Mais uma vez, os valores reportados por este autor não foram semelhantes ao que encontramos em nossas observações.

Malta e Nascimento (2005) reportaram para estas enzimas os valores: ALT ($7,26 \pm 7,35$ U/L) e AST ($161,90 \pm 88,49$ U/L). Aqui damos destaque ao valor

mostrado para AST, muito maior aos relatados para este parâmetro, em comparação com todas as serpentes citadas neste estudo.

Não encontramos literatura que informasse níveis similares ou não, aos relatados neste trabalho para Colesterol, Triglicerídeos, Proteínas Totais, ALT e AST em ensaios experimentais pós-prandiais num período inferior a 24 h.

Podemos supor que as serpentes conseguem administrar o consumo de Glicose, Colesterol, Triglicerídeos, ALT e AST, pois, após a ingestão do alimento, tanto as concentrações (Glicose, Colesterol e Triglicerídeos) quanto os níveis enzimáticos (ALT e AST) aumentaram e dentro de 14 h retornaram ao nível basal, mantendo-se assim por períodos prolongados de jejum, que, em nosso estudo, chegou a 45 dias.

Quanto à manutenção das Proteínas Totais, os dados obtidos pelas coletas antes e pós-alimentação mostraram que esta concentração mantém estabilidade; acreditamos que esta resistência à afagia permite que seu organismo não entre em proteólise para obtenção de energia. Mesmo observando três momentos (120, 150 e 240 d) de aumento estatisticamente significativo (gráfico B - grupo 2) em relação às demais mensurações. Não encontramos uma explicação plausível para o ocorrido, uma vez que esses valores aumentaram somente em 4 animais dentro do N = 10 que compõe este grupo.

Sob uma perspectiva ecológica, esta resistência alimentar imposta pela irregularidade na predação aliada a um comportamento “sedentário”, proporciona uma chance maior de escapar de predadores na natureza, pois acabam delimitando um tempo menor à procura de suprimentos.

7 CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos iniciais propostos para este trabalho e com os resultados obtidos, podemos concluir que:

- Ocorre aumento nas concentrações de: Glicose, Colesterol e Triglicerídeos, e nas atividades de ALT e AST após a alimentação, voltando a níveis basais dentro de 14 h.
- As concentrações de Proteínas Totais não se alteraram em nenhum dos períodos de tempo analisados.
- Não há diferença na concentração sanguínea de Glicose, Colesterol, Triglicerídeos, Proteínas Totais, ALT e AST entre os sexos para esta espécie.
- Estes dados determinam parâmetros fisiológicos basais para períodos de jejum até 45 dias, demonstrando que as serpentes, através de adaptação fisiológica e bioquímica, mantêm estabilidade metabólica mesmo frente a longos períodos de privação alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, A. S.; CRUPI, M. C. Variação sazonal da taxa metabólica na cascavel, *Crotalus durissus* (Serpentes, Viperidae). **Mem. Inst. Butantan**, v.55, supl.1,p.47-53, 1993.

ALLENDER, M. C. et al. Hematology, plasma biochemistry, and antibodies to select viruses in wild-caught eastern massasauga rattlesnakes (*Sistrurus catenatus catenatus*) from Illinois. **Journal of Wildlife Diseases**, v.42, n. 1, p. 107–114, 2006.

AMARAL, A. **Serpentes do Brasil: Iconografia Colorida**. São Paulo: Melhoramentos/MEC/EDUSP, 1977. 248p.

BARRAVIERA, B. **Venenos: Aspectos clínicos e terapêuticos dos acidentes por animais peçonhentos**. Rio de Janeiro: EPUB, 1999. 411p.

BORGES, R. C. **Serpentes Peçonhentas Brasileiras: Manual de identificação, prevenção e procedimentos em caso de acidentes**. São Paulo: Atheneu, 1999. 148p.

BELLUOMINI, H. E.; HOGE, A. R. Observações sobre hábitos de sucuris em cativeiro. **Mem. Inst. Butantan**, n.28, p.207-216, 1957.

BRAZAITIS, P.; WATANABE, M. E. **The World of Snakes**. Tetra Press, 176p. 1993.

CAMPBELL, A. L et al. Biological infrared imaging and sensing. **Mícron**, n.33, p.211-225, 2002.

CAMPBELL, J.A.; LAMAR, W.W. **Venomous Reptiles of Latin America**. New York: Cornell University Press, 1989. 425p.

CHIODINI, R. J.; SUNDBERG, J. P. Blood chemical values of the common boa constrictor (*Constrictor constrictor*). **Am. J. Vet. Res.**, v.43, n.9, p.1701-1702, 1982.

DAVIES, A.; BLAKELEY, A. G. H.; KIDD, C. **Fisiologia Humana**, Porto Alegre: Artmed, 2002, 980p.

FRANCINI, F. et al. Influência de la temperatura sobre la digestion em *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae). **Mem. Inst. Butantan**, v.55, n.1, p.11-17, 1993.

FRANCISCO, L. R. **Répteis do Brasil: Manutenção em cativeiro**. São José dos Pinhais: Gráfica e Editora Amaro, 1997. 208p.

FRYE, F. L. Hematology as applied to clinical reptile medicine In: FRYE, F.L. (Ed.). **Reptile care-an atlas of diseases and treatments**, v.1, p.209-277, 1991.

GRANTSAU, R. **As cobras venenosas do Brasil**. São Bernardo dos Campos: Bandeirante, 1991. 101p.

GREGO, K. F. et al. Referências hematológicas para a jararaca de rabo branco (*Bothrops leucurus*) recém capturadas da natureza. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.6, p.1240-1243, 2006.

GUYTON, A. C. **Fisiologia Humana**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1988, 564p.

HARDY, R. N. **Temperatura e vida animal**. São Paulo: EDUSP – Editora da Universidade de São Paulo, 1981, 91p.

JOHNSON, J. H.; BENSON, P. A. Laboratory reference values for a group captive Ball Pythons (*Python regius*). **Am. J. Vet. Res.**, v.57, n.9, p.1304-1307, 1996.

LEONARDO, S. D. et al. Observação do comportamento reprodutivo da serpente *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti, 1768) em cativeiro. In: VI Encontro de Iniciação Científica - INIC, 2002, São José dos Campos, SP. **Anais do VI Encontro de Iniciação Científica - INIC**, São José dos Campos: UNIVAP, 2002.

MALTA, T. S.; NASCIMENTO, M. R. B. M. Estudo Hematobioquímico na *Podocnemis unifilis*: Perfil Bioquímico Sanguíneo. **Revista eletrônica**, 2005.

Disponível em:

<http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2005_2/e/estudo_hemato.pdf>.

Acesso em: 13 dez. 2007.

MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; SAZIMA, I. **Serpentes da Mata Atlântica: Guia ilustrado para a Serra do Mar**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. 184p.

MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. História Natural das Serpentes. In: CARDOSO et al. **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. p.62-71.

MARTÍNEZ-MARCOS, A.; LANUZA, E.; HALPERN, M. Neural substrates for processing chemosensory information in snakes. **Brain Research Bulletin**, n.57, p.543-546, 2002.

McCUE, M. D. Western diamondback rattlesnakes demonstrate physiological and biochemical strategies for tolerating prolonged starvation. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.1, n.80, p.25-34, 2006.

McDANIEL, R. C. et al. Serum chemistry of the diamond-backed water snake (*Nerodia rhombifera rhombifera*) in Arkansas. **Journal of Wildlife Diseases**, v.20(1), p.44-46, 1984.

MELGAREJO, A. R. Serpentes peçonhentas do Brasil. In: CARDOSO et al. **Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. p.33-61.

MOSMANN, M. N. **Guia das Principais Serpentes do Mundo**, v.1. Canoas: Editora ULBRA, 2001.

MUSEU INSTITUTO BUTANTAN. São Paulo: Instituto Butantan, 2001. 1 CD-ROM.

NOGUEIRA, D. M. et al. **Métodos de Bioquímica Clínica - técnica e interpretação**. São Paulo: Pancast. 1990. 468p.

PETERS, J. A.; OREJAS-MIRANDA, B. **Catalogue of the Neotropical Squamata: part I – Snakes**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1970. 347p.

POUGH, H. F et al. **Herpetology**. New Jersey: Prentice-Hall, 612p. 2001.

PRADO, J. L. A glicemia normal nos ofídios. **Mem. Inst. Butantan**, v.19, p.59-68, 1946.

PUORTO, G. Serpentes. In: Tudo que você precisa saber. G. Puerto (Editor) Instituto Butantan, 2001. 1CD-ROM.

RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1997, 729p.

SAZINA, I.; MARTINS, M. Presas grandes e serpentes jovens: quando os olhos são maiores que a boca. **Mem. Inst. Butantan**, v. 52, n.3, p. 73-79, 1990.

SBH, 2005. Lista de espécies de répteis do Brasil. Sociedade Brasileira de Herpetologia (SBH). Disponível em: <<http://www2.sbherpetologia.org.br/checklist/repteis.htm>>. Acesso em: 12 jul. 2006.

SCHMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal: Adaptação e meio ambiente**. São Paulo: Livraria Santos Editora, 1996, 600p.

SCHWENK, K. Of tongues and noses: Chemoreception in lizards and snakes. **Tree**, n.10, p.7-12, 1995.

SECOR, S. M. Physiological responses to feeding, fasting and estivation for anurans. **The Journal of Experimental Biology**, n.208, p.2595-2608, 2005.

SILVA, R. J. **As Serpentes**. Jaboticabal: Funep, 141p. 2000.

TAVARES, B.; DOMINGUES, M.; RIBEIRO, M. **Ensaio Enzimáticos em Análise Clínica**. 2006. 22 f. Monografia (Faculdade de Ciências), Universidade de Lisboa, Portugal, 2006.

TATTERSALL, G. I. et al. The thermogenesis of digestion in rattlesnakes. **The Journal of Experimental Biology**, v.207, p.579-585, 2004.

TROIANO, J. C. et al. Blood biochemical profile of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*) in captivity. **J. Venom. Anim. Toxins**, v.7, n.2, p.183-189, 2001.

ANEXO A



UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º L205/2005/CEP, intitulado "*Análise dos parâmetros sanguíneos da serpente *Crotalus durissus terrificus* em função da alimentação e estresse*", sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Carlos Cogo, está de acordo com a Lei 11977/2005 (SP), os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA/1991), e as Normas Para a Prática Didático-Científica da Vivissecação de Animais (Lei 6638/1979) sendo, portanto, **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

São José dos Campos, 27 de junho de 2006.

PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP

ANEXO B

ANEXO B

Relação com numeração de microchip dos animais

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
963000000171303	963000000191784	963000000176848
963000000190287	963000000188359	963000000190813
963000000225814	963000000213005	963000000239800
963000000229547	963000000176187	963000000169222
963000000222799	963000000176073	963000000174271
963000000190746	963000000223314	963000000167673
963000000169512	963000000191386	963000000202056
963000000175706	963000000192426	963000000227168
963000000228317	963000000226189	963000000215429
963000000238650	963000000228840	963000000235950
963000000243689	963000000213878	963000000198057
963000000198842	963000000230861	963000000168197
963000000170693	963000000209971	963000000245240
963000000229519	963000000200907	963000000222712
963000000174926	963000000176018	963000000229807