

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS

AVALIAÇÃO DESCRITIVA ULTRASSONOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DE OLHOS DE BALEIAS-JUBARTE (*Megaptera novaeangliae*).

LARISSA PAVANELLI

LARISSA PAVANELLI

AVALIAÇÃO DESCRITIVA ULTRASSONOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DE OLHOS DE BALEIAS-JUBARTE (Megaptera novaeangliae).

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da Bahia, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Arianne Pontes Oriá

SALVADOR – BA

Dados internacionais de catalogação-na-publicação (SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Pavanelli, Larissa.

Avaliação descritiva ultrassonográfica e histológica de olhos de baleias-jubarte (Megaptera novaeangliae) / Larissa Pavanelli. - 2023.

73 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Arianne Pontes Oriá.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2023.

Medicina veterinária.
 Oftalmologia veterinária.
 Ultrassonografia veterinária.
 Histologia veterinária.
 Cetáceos.
 Baleia-jubarte - Histologia.
 Olhos - Anatomia.
 Bolhos - Doenças.
 Oriá, Arianne Pontes.
 Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina veterinária e Zootecnia.
 Título.

CDD - 599.5 CDU - 599.51 Avaliação descritiva ultrassonográfica e histológica de olhos de baleias-jubarte (Megaptera novaeangliae)

LARISSA PAVANELLI

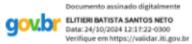
Dissertação ou Tese defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos

Salvador, 17 de outubro de 2023

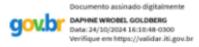
Comissão examinadora:



Dra. Arianne Pontes Oriá
Presidente
(UFBA)



Dr. Elitieri Batista dos Santos-Neto (UERJ)



Dra Daphne Wrobel Goldberg (USP)



Dr. Fabiano Montiani (UFPR) "Uma baleia morta sobre a areia
muda o centro de gravidade
de um dia azul de cartão-postal.
As ondas perguntam e perguntam
Porque se perdeu.
Apinhados ao longe
os homens só sabem repetir em alvoroço
o que as ondas perguntam..."

Ruy Proença

À Sandra (in memorian)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sandra e Telvio, por tudo que fizeram para que eu fosse a primeira graduada da família.

A minha esposa Joana, cujo apoio e amor durante esses mais de 6 anos foram indispensáveis. Obrigada por todos os momentos de apoio e incentivo para que eu não desistisse do mestrado, esse projeto não existiria sem sua ajuda e eu também não estaria aqui sem você. Obrigada pelos ajustes nas tabelas, desenhos e infinitas correções.

A meus sogros Kita e Bené, que me acolheram em Salvador e me deram a oportunidade de focar no trabalho e mestrado.

Aos amigos Adriana e Hernani, por todo o suporte, carinho e amizade ao longo desse percurso e a Milton Marcondes, pelas longas conversas pós-necropsia, que deram início a essa estranha ideia de estudar olhos de baleia.

Ao Instituto Baleia Jubarte e Instituto Mamíferos Aquáticos, pela cessão dos olhos desse projeto. Um agradecimento especial ao IMA, minha segunda casa.

À minha orientadora, Arianne, por acreditar na loucura de se estudar olhos de baleia. Obrigada pela paciência com meus prazos impossíveis, eu sei que poderia ter sido melhor para você. Ao grupo de oftalmologia da Universidade Federal da Bahia, por todo o acolhimento, em especial Madalena, sempre gentil e solícita e Vinícius, sempre me socorrendo, não importa a hora. Vocês não fazem ideia do quão grata eu sou a vocês.

Ao setor de patologia da Universidade Federal da Bahia, professora Alessandra e Danielle, por todo o suporte necessário para esse projeto, com as análises histológicas, lindas fotos e correções. Agradeço especialmente à Altemar, pela paciência e carinho no processamento das amostras, sei que foi difícil.

À professora Caterina, que realizou os ultrassons desse projeto às vésperas de sua mudança. Agradeço muito seu apoio e dedicação para esse estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço minha banca de pré-defesa e defesa, Dra Daphne Wrobel, Dr. Elitieri Neto e Dr. Ralph Vanstreels pelos ajustes e imensa troca. O trabalho está mais rico por causa de vocês.

Às baleias, esses seres incríveis. Obrigada por existirem e por, mesmo na morte, trazerem tanto para a conservação.

Avaliação descritiva ultrassonográfica e histológica de olhos de baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*)

RESUMO

A anatomia do olho dos cetáceos difere dos mamíferos terrestres e apresenta adaptações específicas para o meio aquático, como a capacidade de se ajustar às propriedades e desafios do ambiente aquático. Possuem adaptações marcantes, como a esclera e córnea mais espessas, alta vascularização e músculos extraoculares bem desenvolvidos. A oftalmologia veterinária de mamíferos marinhos é uma área emergente e pouco explorada, com os estudos concentrados em pinípedes e odontocetos e poucos estudos em misticetos de vida livre.

O presente trabalho objetivou analisar e descrever as estruturas anatômicas dos olhos de baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) e eventuais processos patológicos, relacionando as dimensões das estruturas oftálmicas com a faixa etária, sexo e comprimento total do animal, através do uso de ultrassonografia e histologia. Para tanto, utilizou 21 olhos, provenientes de 19 indivíduos, que encalharam vivos e foram a óbito ou mortos, entre os municípios de Linhares/ES e Salvador/BA, entre os anos de 2001 e 2019. Dezessete (17) indivíduos foram classificados como código 2 (carcaças frescas, sem sinais de decomposição) e dois indivíduos como código 3 (carcaça em moderado estágio de decomposição), com faixa etária predominante de filhotes (n=15), seguido de juvenis (n=3) e um único exemplar adulto. Com relação ao sexo, foram 12 machos e cinco fêmeas, dentre os indivíduos com sexo determinado (n=17).

Os achados ultrassonográficos demonstram que a córnea desses animais é mais delgada no centro do olho e mais espessa na periferia, com lente de formato ovalado. Parte dos animais (n=14) apresentou uma estrutura filamentar intraocular, que se origina próxima ao nervo óptico e se estende à lente. Entre as alterações encontradas ultrassonograficamente, houve prevalência de descolamento de retina (n=13) e alterações em córnea (n=10), com irregularidades e espessamento e, histologicamente, predominância de alterações circulatórias (n=6), com a hipótese de que as alterações circulatórias encontradas são decorrentes de alterações sistêmicas ocorridas durante o encalhe desses animais.

Estatisticamente, uma correlação positiva foi encontrada entre o tamanho do animal e algumas variáveis, como largura do bulbo (r=0,021), espessura da lente (r=0,010) e diâmetro da lente (r=0,020). Diferenças significativas das médias foram encontradas quando comparada a faixa etária dos animais, entre filhotes e juvenis, nas variáveis largura do bulbo (ρ =0,019), espessura da córnea no centro (ρ =0,012), diâmetro da lente (ρ =0,018) e espessura da lente (ρ =0,028). Não houve diferenças nas variáveis analisadas (largura do bulbo, espessura da córnea no centro e extremidades, espessura da córnea no centro e nas extremidades, espessura da cartilagem escleral nas duas extremidades, espessura da câmara anterior, espessura e diâmetro da lente, vítreo, comprimento axial do bulbo, espessura da câmara posterior, espessura do corpo ciliar e diâmetro do nervo óptico) quanto ao sexo do indivíduo.

Histologicamente, a córnea é dividida em cinco camadas, sendo a camada epitelial dividida em 13 camadas de células, separadas pela membrana de Bowman e a íris possui o músculo dilatador pouco desenvolvido e o músculo esfíncter mais desenvolvido. A retina é constituída por dez camadas fotossensíveis, com presença de cones e bastonetes e possui uma estrutura formada por tecido conjuntivo frouxo, entremeada por vasos sanguíneos, que se origina na região do nervo óptico e se estende por toda a câmara

vítrea, até a lente e possui uma rede oftálmica forma um emaranhado de vasos arteriais e venosos, dispersos em tecido conjuntivo abundante e o músculo ciliar é vestigial.

A estrutura intraocular, histologicamente, se origina na região central do nervo óptico e se estende por toda a câmara vítrea, até se fixar à lente e é formada por tecido conjuntivo frouxo, entremeada por vasos sanguíneos.

Devido as dimensões dos olhos de baleia-jubarte, o estudo mostrou que os transdutores lineares com alcance entre 7 a 12 MHz e os convexos com alcance entre 2 a 5,5 MHz se mostraram mais adequados para a visibilização das estruturas.

Os achados ultrassonográficos e histológicos corroboram com os achados em literatura descritos para outros misticetos na morfologia da maioria das estruturas. A estrutura filamentar encontrada não está descrita em qualquer outra espécie de cetáceo e permanece com a função desconhecida, porém pode-se tratar de um tecido de sustentação da lente, uma vez que ela parece se esticar e retrair, ou, ainda, que ela seja uma persistência hiperplásica do vítreo primitivo, uma anomalia congênita relatada em outras espécies de animais, embora nesse estudo haja uma alta prevalência dessa estrutura.

A oftalmologia em animais marinhos ainda é pouco explorada, em especial quando se trata de misticetos e novos estudos se fazem necessários para esclarecer as funções das estruturas oculares, gerando informações que podem auxiliar os médicos veterinários durante o atendimento de encalhe de grandes cetáceos e gerar conhecimento para ações de conservação.

Palavras-chave: baleia-jubarte; conservação; histologia; oftalmologia; ultrassonografia

Ultrasonographic and histological descriptive evaluation of humpback whale eyes (Megaptera novaeangliae)

ABSTRACT

The anatomy of the cetacean eye differs from terrestrial mammals and has specific adaptations for the aquatic environment, such as the ability to adjust to the properties and challenges of the aquatic environment. They have remarkable adaptations, such as a thicker sclera and cornea, high vascularization, and well-developed extraocular muscles. The veterinary ophthalmology of marine mammals is an emerging and little-explored area, with studies concentrated on pinnipeds and odontocetes and few studies on free-living mysticetes.

The aim of this study was to analyze and describe the anatomical structures of the eyes of Humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) and possible pathological processes, relating the dimensions of the ophthalmic structures to the age group, sex and total length of the animal, using ultrasound and histology. To this end, 21 eyes were used, from 19 individuals that stranded alive and died, between the municipalities of Linhares/ES and Salvador/BA, between 2001 and 2019. Seventeen (17) individuals were classified as code 2 (fresh carcasses, with no signs of decomposition) and two individuals as code 3 (carcasses in a moderate stage of decomposition), with a predominant age group of young (n=15), followed by juveniles (n=3) and a single adult specimen. About sex, there were 12 males and five females among the individuals with a determined sex (n=17).

The ultrasound findings show that the cornea of these animals is thinner in the center of the eye and thicker in the periphery, with an oval-shaped lens. Part of the animals (n=14) showed an intraocular filamentary structure, which originates near the optic nerve and extends to the lens. Among the alterations found ultrasonographically, there was a prevalence of retinal detachment (n=13) and corneal alterations (n=10), with irregularities and thickening and, histologically, a predominance of circulatory alterations (n=6), with the hypothesis that the circulatory alterations found are due to systemic alterations that occurred during the stranding of these animals.

Statistically, a positive correlation was found between the size of the animal and some variables, such as eyeball width (r=0.021), lens thickness (r=0.010) and lens diameter (r=0.020). Significant differences in means were found when comparing the age

range of the animals, between calves and juveniles, in the variables eyeball width $(\rho=0.019)$, corneal thickness in the center $(\rho=0.012)$, lens diameter $(\rho=0.018)$ and lens thickness $(\rho=0.028)$. There were no differences in the variables analyzed (eyeball width, corneal thickness at the center and extremities, corneal thickness at the center and extremities, scleral cartilage thickness at both extremities, anterior chamber thickness, lens thickness and diameter, vitreous, axial eyeball length, posterior chamber thickness, ciliary body thickness and optic nerve diameter) in relation to the sex of the individual.

Histologically, the cornea is divided into five layers, with the epithelial layer divided into 13 layers of cells, separated by Bowman's membrane, and the iris has a poorly developed dilator muscle and a more developed sphincter muscle. The retina is made up of ten photosensitive layers, with the presence of cones and rods and has a structure made up of loose connective tissue, interspersed with blood vessels, which originates in the region of the optic nerve and extends throughout the vitreous chamber, up to the lens and has an ophthalmic network that forms a tangle of arterial and venous vessels, dispersed in abundant connective tissue and the ciliary muscle is vestigial.

The intraocular structure, histologically, originates in the central region of the optic nerve and extends throughout the vitreous chamber, until it attaches to the lens and is formed by loose connective tissue, interspersed with blood vessels.

Due to the size of humpback whale eyes, the study showed that linear transducers with a range between 7 and 12 MHz and convex transducers with a range between 2 and 5.5 MHz were more suitable for visualizing the structures.

The sonographic and histological findings corroborate those described in the literature for other mysticetes in terms of the morphology of most of the structures. The filamentous structure found has not been described in any other cetacean species and its function remains unknown, but it may be a lens support tissue, since it appears to stretch and retract, or it may be a hyperplastic persistence of the primitive vitreous, a congenital anomaly reported in other animal species, although in this study there was a high prevalence of this structure.

Ophthalmology in marine animals is still little explored, especially when it comes to mysticetes, and new studies are needed to clarify the functions of ocular structures, generating information that can help veterinarians during the stranding of large cetaceans and generate knowledge for conservation actions.

Keywords: conservation; histology; humpback whales; ophthalmology; ultrasonography

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa com ilustração dos estoques reprodutivos de baleias-jubarte (BS) no hemisfério Sul, de acordo com o <i>International Whaling Comission</i> (adaptado de Amaral et al., 2016)
Figura 2 - Desenho esquemático da biometria ultrassonográfica realizada em olho de <i>Megaptera novaeangliae</i> . A: Mensuração ultrassonográfica da espessura da córnea (em cm) no centro (ECO) (marcador em linha laranja contínua), e nas extremidades (EC1 e EC2) (marcadores em linhas contínuas verdes). Mensuração ultrassonográfica da câmara anterior (ECA) em linha tracejada roxa. Mensuração ultrassonográfica do corpo ciliar (ECC) em linhas amarelas contínuas. Mensuração ultrassonográfica da câmara posterior (ECP) em linhas contínuas azuis. Mensuração ultrassonográfica do diâmetro do nervo óptico (DNO) em linha contínua rosa. Mensuração ultrassonográfica do vítreo (V) em linha tracejada vermelha. B: Mensuração do comprimento axial do bulbo (CAB) (em cm) em linha tracejada azul, mensuração do diâmetro da lente (DL) em linha tracejada vermelha. Mensuração ultrassonográfica da largura do bulbo (LB) em linha tracejada verde. Mensuração ultrassonográfica da espessura da cartilagem escleral no centro (ECEO) em linha tracejada amarela e nas extremidades (ECE 1 e 2) em linha tracejada rosa
Figura 3 — Imagens ultrassonográficas de olhos de <i>Megaptera novaeangliae</i> . A: Mensuração ultrassonográfica da espessura da córnea (em cm) no centro (EC0) (marcador 1 em amarelo tracejado), e nas extremidades (EC1 e EC2) (marcadores 2 e 3 em linhas tracejadas amarela e verde, respectivamente). B: Mensuração do comprimento axial do bulbo (CAB) (em cm) em linha tracejada verde, Mensuração do diâmetro da lente (DL) em linha tracejada amarela e Mensuração da espessura da câmara posterior (em cm) em linhas azuis
Figura 4 - Biometria do bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> . A: Largura do bulbo ocular. B: Largura da córnea. C: Altura do bulbo ocular. D: Diâmetro do nervo óptico
Figura 5 - Bulbo ocular <i>de Megaptera novaeangliae</i> , corte sagital. A. Esclera (seta preta); Nervo óptico (seta vermelha). B. Lente; Humor vítreo; Estrutura conectada à lente e nervo óptico (estrutura de sustentação - seta vermelha)
Figura 6 - Mapa de ocorrências de <i>Megaptera novaeangliae</i> utilizadas no estudo
Figura 7 - Bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> , córnea. A. Imagem macroscópica da córnea, corte sagital do bulbo ocular. B e C. Fotomicrografias da córnea. Corte sagital. B. As cinco camadas da córnea: epitélio anterior (seta vermelha), membrana de Bowman, estroma (linha preta), membrana de Descement e endotélio (seta preta). C. Epitélio corneal (asterisco) constituído por cerca de 13 camadas de células. Notar membrana de Bowman abaixo do epitélio corneal (seta vermelha). HE, 10x e 20x, respectivamente

Figura 8 - Bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> , íris. A. Imagem macroscópica da íris, corte transversal do bulbo ocular. B. Fotomicrografia da íris, borda livre. Corte sagital. Camada epitelial externa (seta preta); Camada epitelial interna (seta vermelha); 1. Estroma; 2. Músculo esfíncter da pupila; 3. Músculo dilatador da pupila. HE, 20x
Figura 9 - Bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> , córnea. A. Imagem macroscópica da córnea (asterisco), corte sagital do bulbo ocular. B. Fotomicrografia da córnea. Camadas fotossensíveis: 1. Epitélio pigmentar; 2. Bastonetes e cones; 3. Membrana limitante externa; 4. Camada nuclear externa; 5. Camada plexiforme externa; 6. Camada nuclear interna; 7. Camada plexiforme interna; 8. Camada de células ganglionares; 9. Camada de fibras do nervo óptico e 10. Membrana limitante interna HE, 20x
Figura 10 - Bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> . A. Imagem macroscópica do olho de animal adulto, notar estrutura interna (seta vermelha). B – E. Fotomicrografias de nervo óptico e estrutura intraocular. B e C. Estrutura intraocular (setas vermelhas) mostrando vascularização presente na estrutura (setas pretas). D e E. Inserção da estrutura no nervo óptico mostrando vascularização (setas vermelhas), artéria central da retina e tecido conjuntivo adjacente (imagem D seta preta) e lâmina crivosa da esclera (imagem E - seta preta). HE e TM, 2,5x, 10x e 20x
Figura 11 - Bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> , coroide. A e B. Fotomicrografias da coroide. Em ambas as imagens vasos dilatados preenchidos por hemácias. Em B. há numerosos melanócitos (setas pretas) no tecido conjuntivo, HE, 10x e 20x, respectivamente
Figura 12 - Bulbo ocular de <i>Megaptera novaeangliae</i> , cartilagem escleral. A - C. Fotomicrografias da cartilagem escleral. C e D. Histoquímica de TM, notar feixes multidirecionais marcados em vermelho compatíveis com músculo liso. HE e TM, 10x e 20x
Figura 13 - Imagens ultrassonográficas de olhos de <i>Megaptera novaeangliae</i> . A: Aumento da ecogenicidade do nervo óptico B: Descolamento de retina
Figura 14 - Fotomicrografias de alterações microscópicas em olhos de <i>Megaptera novaeangliae</i> . A. Acantose em esclera (seta). B. Degeneração hidrópica em conjuntiva bulbar (setas). C. Congestão em coroide, notar vasos dilatados preenchidos por hemácias (seta). D. Coroidite linfoplasmocitária, notar infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (seta). HE, 10x, 20x e 40x

LISTA DE TABELAS

					_	aptera novaea	~		
•				-		utilizados	-		
Tabela 2	: Dados	s biométri	cos de	os olhos de	Megapter	a novaeanglia	e obtido	s atrav	vés de
						cas de olhos d			39
						cas de olhos d n faixa etária f	U 1		39
Megapte	era nov	vaeangliae	e (en	cm) rela	cionadas	medidas bio ao comprime	ento tot	al do	animal
		•	-			l e nas medida etária			
		•				s medidas bior			

LISTA DE SIGLAS

IMA – Instituto Mamíferos Aquáticos

IBJ – Instituto Baleia Jubarte

HOSPMEV – Hospital de Medicina Veterinária Renato de Medeiros Netto

UFBA - Universidade Federal da Bahia

IWC - International Whaling Comission

IUCN - International Union for Conservation of Nature

LB – Largura do olho

CAB - Comprimento axial do bulbo

ECEO – Espessura da cartilagem escleral no centro

ECE1 – Espessura da cartilagem escleral na extremidade

ECE2 – Espessura da cartilagem escleral na extremidade

ECO – Espessura da córnea no centro

EC1 – Espessura da córnea na extremidade

EC2 – Espessura da córnea na extremidade

ECA – Espessura da câmara anterior

EL – Espessura da lente

DL – Diâmetro da lente

ECP – Espessura da câmara posterior

V – Vítreo

ECC – Espessura do corpo ciliar

DNO – Diâmetro do nervo óptico

CT – Comprimento total

NA – Não amostrados

LL – Luxação de lente

LPV-UFBA – Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal da Bahia

SISBIO – Sistema de Autorização e Informação de Biodiversidade

ECM – Espessura da córnea nas extremidades

ECEM – Média da espessura da cartilagem da esclera nas duas extremidades

HE – Hematoxilina-eosina

TM - Tricrômico de Masson

PHVP – Persistência hiperplásica do vítreo primitivo

SUMÁRIO

1. I	NTRODUÇÃO	32
2. (OBJETIVOS	34
3. F	REVISÃO DE LITERATURA	35
3.1	OS CETÁCEOS	35
3.2	BALEIA-JUBARTE	36
3.3	A AMEAÇA DA PESCA	38
3.3	O OLHO DOS CETÁCEOS	39
3	.3.1 Visão geral	39
3	.3.2 A visão dos cetáceos	39
3	.3.3 Alterações	42
3	.3.4 A córnea	43
3	.3.5 Íris e pupilas	43
3.4	ULTRASSONOGRAFIA OFTÁLMICA EM CETÁCEOS	45
4. N	MATERIAL E MÉTODO	48
4.1	ESPÉCIMES	48
4	.1.1 Coleta dos espécimes	49
4.2	AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA	49
4.3	AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	52
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	53
5. F	RESULTADOS	
5.1	MENSURAÇÃO MACROSCÓPICA	56
5.2	ANÁLISES ULTRASSONOGRÁFICAS E HISTOLÓGICAS	61
5	.2.1 Córnea	61
5	.2.2 Câmara anterior	62
5	.2.3 Lente	62
5	.2.4 Íris	63
5	.2.5 Retina	64
5	.2.6 Câmara vítrea	64
5	.2.7 Estrutura intraocular	65
5	.2.8 Coroide	67
5	.2.9 Cartilagem escleral	67
5	.2.10 Nervo óptico	68
5.3	ALTERAÇÕES	68

6	DISCUSSÃO	.71
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	.77
REI	FERÊNCIAS	.79

1. INTRODUÇÃO

A anatomia do olho dos cetáceos difere dos mamíferos terrestres em diversos aspectos, e apresenta adaptações específicas para o meio aquático, como a capacidade de se ajustar às propriedades da água e à reduzida iluminação em águas profundas (GRIEBEL, 2002; MASS e SUPIN, 2007). Suas adaptações mais marcantes são a esclera e a córnea proporcionalmente mais espessas, a alta vascularização através da rede vascular e músculos extraoculares bem desenvolvidos. Tais estruturas protegem os olhos de possíveis danos causados pela alta densidade da água, baixas temperaturas e danos mecânicos oriundos de partículas suspensas, que também dispersam a luz em várias direções e podem dificultar a visão (GRIEBEL, 2002).

A oftalmologia veterinária de animais selvagens é uma área emergente, ainda pouco explorada em mamíferos marinhos de vida livre, e a maior parte dos estudos está concentrada em pequenos cetáceos e pinípedes mantidos em cativeiro ou em centros de reabilitação de fauna marinha (DAWSON et al., 1987; MASS e SUPIN, 1990; CARTEE et al., 1995; MASS e SUPIN, 2002; RIVAMONT, 2009; DUBIELZIG et al., 2010; DAVIS et al., 2013; COLITZ et al., 2016). Em contrapartida, os dados de literatura relativos aos misticetos são escassos (ZHU et al., 2001; BUONO et al., 2012; ROGRIGUES et al., 2014; 2015).

Estudos anatômicos dos olhos e das estruturas associadas, bem como de processos patológicos no sistema visual são essenciais na avaliação da acuidade visual de mamíferos aquáticos e podem gerar dados importantes para a conservação dessas espécies, servindo de base para outras pesquisas. O conhecimento da visão dos cetáceos pode contribuir com a mitigação das ameaças de origem antrópica, por exemplo, fornecendo subsídios para a criação e uso de novos petrechos de pesca que possam ser visualmente detectados e evitados por esses animais. As informações obtidas também podem auxiliar os veterinários na compreensão de eventuais processos patológicos em animais encalhados, e que devem ser corretamente diagnosticados e tratados antes da reintrodução ao ambiente marinho (HARVEY, 2019).

Embora existam estudos relacionados à visão em cetáceos (DAWSON et al., 1987; CARTEE et al., 1995; MASS e SUPIN, 1997; COLITZ et al., 2016), para misticetos, como é o caso da baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), as informações

são limitadas e os estudos sobre morfologia e funcionalidade de olhos para esses cetáceos, geralmente, são balizados na morfologia de espécimes adultos (BUONO et al., 2012).

No presente estudo, foram realizadas análises detalhadas para a descrição morfológica do olho de baleias-jubarte, por estudo ultrassonográfico e histológico.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar e descrever as estruturas anatômicas dos olhos de baleias-jubarte (Megaptera novaeangliae).

Objetivos específicos

- a) Descrever a anatomia do bulbo ocular e estruturas dos anexos oftálmicos
- b) Avaliar e descrever ultrassonograficamente os olhos de baleias-jubarte.
- c) Avaliar e descrever histologicamente os olhos de baleias-jubarte.
- d) Avaliar e descrever eventuais achados patológicos nas estruturas oftálmicas.
- e) Relacionar as dimensões das estruturas com a faixa etária, sexo e comprimento total do animal.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 OS CETÁCEOS

Cetáceos, do grego *ketos*, significa monstro marinho. Esse grupo de animais possui ampla variedade de espécies, que habitam todos os oceanos do planeta (ENGEL e MARCOVALDI, 2012). São indivíduos que desenvolveram adaptações para a vida aquática ao longo da sua evolução, a exemplo do corpo hidrodinâmico, perda dos pelos e de estruturas externas que fazem resistência na água, migração das fossas nasais para a parte superior da cabeça (processo conhecido como telescopia), membros torácicos encurtados, com aquisição do formato de remo, membros pélvicos reduzidos a pequenos ossos rudimentares próximos a coluna e espessa camada de gordura, que é capaz de manter a termorregulação (BASTIDA et al., 2018).

Esses animais estão dentro da superordem Cetartiodactyla, que compreende os mamíferos artiodáctilos (mamíferos ungulados) e os cetáceos (odontocetos, misticetos) (PRICE et al., 2005). Entre os artiodáctilos, os hipopótamos são os parentes existentes mais próximos dos cetáceos (PRICE et al., 2005).

O número de espécies viventes diverge entre autores, embora a lista oficial de espécies da *Society for Marine Mammalogy* aceite a existência de 92 espécies de cetáceos (COMMITTEE ON TAXONOMY, 2021). As espécies estão taxonomicamente divididas em misticetos, grupo de animais com barbatanas, que abrange as grandes baleias; e odontocetos, grupo de cetáceos com dentes, que engloba golfinhos, cachalotes, zifídeos e outros (ENGEL & MARCOVALDI, 2012; BASTIDA et al., 2018).

Os misticetos, ou baleias verdadeiras, estão divididos em seis famílias e possuem um sistema de filtração na cavidade oral, chamado de barbatanas, no lugar dos dentes, além de um duplo orifício respiratório. Quase todas as espécies realizam longas migrações sazonais, apresentando hábitos solitários. Por não possuírem hábitos gregários, os indivíduos são geralmente encontrados em pequenos grupos reprodutivos ou solitários. Sua dieta é composta por pequenos peixes e invertebrados (JEFFERSON et al., 2007). Os odontocetos, por sua vez, possuem uma dentição permanente e os dentes não apresentam diferenciação entre si (característica conhecida como homodontia). Esses indivíduos dispõem de um único orifício respiratório, possuem um complexo sistema de seios nasais, além de um órgão na frente do crânio, denominado

melão, que está relacionado à capacidade de ecolocalização. São caçadores ativos, capturam presas individuais, que incluem uma ampla variedade de peixes, cefalópodes e outros (JEFFERSON et al., 2007).

3.2 BALEIA-JUBARTE

A jubarte, ou baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*, Borowki, 1781) é uma espécie cosmopolita, conhecida e de fácil identificação. A etimologia do gênero *Megaptera* possui origem grega, ou seja: *mega* (grande) e *pteron* (nadadeira); porquanto, suas nadadeiras peitorais podem medir um terço do tamanho de seu corpo, característica esta que é marcante para a espécie. O termo *novaeangliae*, por sua vez, deriva de Nova Inglaterra, por serem muito frequentes na região (BASTIDA et al., 2018). O gênero *Megaptera* é composto por única espécie, sem subespécies (CLAPHAM, 2009).

Baleias-jubarte apresentam comportamento aéreo, com tendência a grandes saltos, possuem protuberâncias em sua cabeça e nas nadadeiras peitorais, além de sulcos ventrais amplos, que se estendem da mandíbula até a região do umbigo. Podem medir até 16 metros de comprimento e chegar a 30 toneladas de peso, quando adultas, sendo que as fêmeas são maiores que os machos. (ENGEL e MARCOVALDI, 2012; BASTIDA et al., 2018). Apresentam coloração negra no dorso, com variações individuais de cor no ventre, podendo ser brancas, pretas ou pintadas (CLAPHAM, 2009). As manchas e o padrão serreado na face ventral da nadadeira caudal podem ser expostos durante o movimento de mergulho, permitindo a captura fotográfica para identificação de cada indivíduo por catálogo de imagens (BASTIDA et al., 2018).

As jubartes estão distribuídas em todos os oceanos do mundo e são animais migratórios, que percorrem cerca de 8.000 km entre as áreas de alimentação e as de reprodução, todos os anos. Passam a primavera, verão e outono se alimentando em águas frias, em médias e altas latitudes, e migram no inverno para se reproduzir e cuidar dos seus filhotes em águas quentes tropicais (CLAPHAM, 2009). No Hemisfério Sul, os nascimentos se concentram em agosto, com cada fêmea capaz de dar a luz a um único filhote, que nasce com cerca de 4 metros de comprimento (BASTIDA et al., 2018). A principal área de ocorrência desta espécie no Brasil é a região do Banco de Abrolhos, localizado entre o sul da Bahia e norte do Espírito Santo (ENGEL e MARCONDES, 2022)

Historicamente, a *International Whaling Commission* (IWC) reconhece sete áreas delimitadas de reprodução de baleias-jubartes no hemisfério sul, designadas por letras, de A-G, utilizadas por diferentes populações ou estoques reprodutivos. Na costa brasileira está localizado o estoque reprodutivo A (BSA), especialmente na região do Arquipélago de Abrolhos, no sul da Bahia, com cerca de 2.000 animais que visitam a área anualmente (BASTIDA et al., 2018).

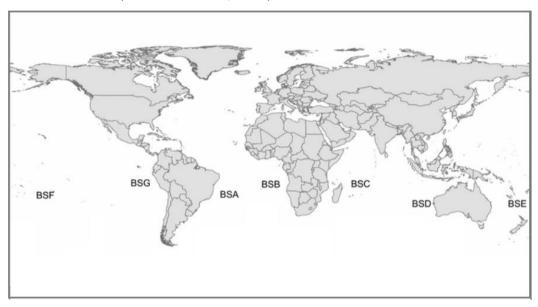


Figura 1 - Mapa com ilustração dos estoques reprodutivos de *Megaptera novaeangliae* (BS) no Hemisfério Sul, de acordo com o *International Whaling Comission* (adaptado de Amaral et al., 2016).

Embora o número pareça satisfatório, um estudo demonstra que a população que visitava anualmente a costa brasileira era de aproximadamente 24.600 indivíduos entre os anos de 1904 e 1938 (ZERBINI et al., 2011). Este estoque sofreu com a caça desde o século XVII, com intensificação no século XIX, devido ao aprimoramento das técnicas baleeiras de abate. É estimado que cerca de 200.000 indivíduos de baleias-jubarte tenham sido abatidos nos estoques do Atlântico Sul, no período de 1904 a 1972, fato que resultou num colapso populacional para menos de 4% de sua abundância préexploração. Embora as primeiras leis de proteção às baleias tenham sido criadas na década de 1960, estes animais foram caçados de forma ilegal até 1973 (ZERBINI et al., 2011).

Atualmente a espécie é classificada pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) como "Pouco Preocupante" (IUCN, 2008) e como "Quase Ameaçada" pelo Livro Vermelho do ICMBio, em 2018. Porém, a população do estoque A vem se

recuperando, atingindo cerca de 26 a 32% de sua abundância original (ZERBINI et al., 2011) e a caça deu lugar ao turismo de observação (BASTIDA et al., 2018).

3.3 A AMEAÇA DA PESCA

A captura incidental (*bycatch*) é uma ameaça conhecida para diversos táxons marinhos, incluindo os cetáceos, pinípedes, quelônios e aves marinhas. A diversidade ecológica das espécies afetadas pela interação com a pesca torna as ações de prevenção e mitigação desses impactos um enorme desafio (MARTIN e CRAWFORD, 2015). É sabido que os emalhes em redes de pesca são a principal causa de injúrias e mortalidade de muitas espécies de mamíferos marinhos em todo o mundo (JOHNSON, et al., 2005). Embora a maior parte dos cetáceos capturados em redes de emalhe sejam golfinhos, as grandes baleias também são vulneráveis à interação, gerando propostas para modificação das redes de pesca, de forma a serem mais facilmente identificadas e evitadas pelos animais (DAWSON, 1991).

Odontocetos podem utilizar a ecolocalização, porém nem sempre as informações acústicas obtidas são suficientes para evitar um emalhe em rede de pesca (MARTIN e CRAWFORD, 2015). Para esse grupo de cetáceos, são propostas redes com refletores acústicos ou com emissores de avisos sonoros que possam sinalizar a presença do petrecho. No entanto, a criação de redes com essas características esbarra em dificuldades para o design e desenvolvimento dos modelos (DAWSON, 1991). Para os misticetos, são propostos petrechos de pesca com cores (JOHNSON, et al., 2005) e tecnologias inovadoras, como dispositivos com liberação de gatilho que cortam a linha ao entrar em contato com grandes cetáceos (MEYER et al., 2011).

No que concerne aos misticetos, um estudo sobre a presença cicatrizes em populações de baleia-franca-do-atlântico-norte (*Eubalaena glacialis*) demonstrou que 71,9% da população possui marcas de interação compatíveis com emalhe. Segundo os autores, o problema é igualmente comum para a população de baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) no Atlântico Norte (JOHNSON, et al., 2005).

De modo geral, o aumento do número de misticetos emalhados pode estar relacionado ao fenômeno migratório reprodutivo das espécies, com deslocamentos para a reprodução em diferentes locais e consequente aumento do número de animais concentrados juntos, como Irlanda, África do Sul e Estados Unidos (ROBBINS e MATTILA, 2004; JOHNSON, et al., 2005; MEYER et al., 2011

3.3 O OLHO DOS CETÁCEOS

3.3.1 Visão geral

A estrutura ocular dos cetáceos foi revisada por Mass e Supin, em 2007. Além das adaptações na esclera e na córnea, que se tornaram mais espessas e rígidas, esses animais passaram a apresentar alta vascularização nos olhos, e músculos oculares bem desenvolvidos. Ademais, observou-se que, diferente dos mamíferos terrestres, que possuem o bulbo ocular esférico, em cetáceos há um achatamento do segmento anterior, que resulta num comprimento axial menor do que o diâmetro (MASS e SUPIN, 1990; GRIEBEL, 2002; MASS e SUPIN, 2007). Seus olhos possuem músculos retos nas regiões dorsal, ventral medial e lateral, músculos oblíquos nas regiões dorsal e ventral e o músculo retrator bulbar possui inervação similar à apresentada em mamíferos terrestres, promovendo a movimentação dos olhos de forma independente (COLITZ, MONTIANI-FERREIRA, 2022).

3.3.2 A visão dos cetáceos

Por muito tempo se acreditou que os odontocetos, devido à sua aprimorada audição e ao uso de mecanismos como a ecolocalização, fossem animais de baixa visão. Com a manutenção desses animais em cativeiro, as observações das atividades visuais provaram o contrário, uma vez que diferentes espécimes se mostraram capazes de capturar peixes durante as manobras aéreas, de acertar precisamente os alvos fora da água e de reconhecer visualmente os seus treinadores (MASS e SUPIN, 2009).

O ambiente aquático oferece muitos desafios para o sistema visual dos cetáceos, devido às variações de iluminação, ao aumento de densidade ótica em mergulhos, à dispersão e a difração da luz pelas partículas em suspensão, entre outros. Embora os cetáceos e sirênios sejam animais que passam a vida inteira na água, possuem boa acuidade visual também no ambiente aéreo, segundo as informações relacionadas aos seus mecanismos óticos e estruturas retinianas (GRIEBEL, 2002). Tais adaptações adquiridas para os dois ambientes podem estar relacionadas com a necessidade de respiração aérea, que demanda a utilização das camadas mais superficiais da coluna d'água.

Em geral, a acuidade visual dos golfinhos é estimada entre 8 e 27 arcmin, na água, e 12 e 18 arcmin no ar (MASS e SUPIN, 2009). A acuidade visual é a capacidade de resolução espacial de um sistema visual, que pode ser medida em minutos de arco (arcmin). Uma vez que um grau contém 60 minutos, um ângulo visual de um arcmin é 1/60 de um grau (KALLONIATUS, LUU, 2012).

As adaptações se mostram também diferentes entre as espécies de cetáceos, sendo moldadas de acordo com as variações ambientais de cada uma. Por exemplo, odontocetos de rio, que utilizam águas mais túrbidas, têm seus mecanismos de visão centrais e periféricos reduzidos em relação aos golfinhos oceânicos, que utilizam águas mais claras (MADSEN e HERMAN, 1980). Em termos anatômicos, há uma diminuição do bulbo ocular e dos nervos óptico e oculomotores, com diferenças entre as espécies, sendo essa adaptação mais pronunciada em espécies de golfinhos fluviais da família Platanistidae e menos pronunciada em animais em botos cor-de-rosa (*Inia geoffrensis*) (MASS e SUPIN, 1989).

O estudo de Rodrigues e colaboradores (2022) demonstrou que há um acúmulo maior de melanina na esclera de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) em comparação com o encontrado em golfinhos-de-clímene (*Stenella clymene*), sugerindo que animais de hábitos mais costeiros podem receber mais radiação UV devido à menor refração atmosférica.

A visão dos golfinhos é importante para a distinção rápida e precisa de objetos fora do ambiente aquático, onde a ecolocalização não é eficiente. No entanto, esse sentido também apresenta importância adicional em vários aspectos da vida desses animais, como na interação social, na identificação de indivíduos e espécies com base nas características externas e marcas individuais observadas, na escolha e captura de presas, na orientação e nas atividades reprodutivas e de defesa (MASS e SUPIN, 2009).

A visão em cores é balizada na existência de dois ou mais tipos de fotorreceptores, contendo fotopigmentos na retina (GRIEBEL, 2002). O processamento das informações referentes a cores específicas, recebidas nos olhos e no cérebro, resultam na percepção de cor como um fenômeno subjetivo em humanos e animais. A maioria dos mamíferos são dicromatas, ou seja, possuem dois tipos de cones: os cones L, que respondem ao espectro de comprimento de onda longo, sensíveis ao verde e ao vermelho, a depender da espécie; e os cones S, que respondem ao espectro de ondas

curtas, sensíveis ao azul e ao ultravioleta (UV), a depender da espécie. Os seres humanos e demais primatas possuem um terceiro tipo de cone, os cones M, que respondem ao espectro de ondas médias, sensíveis ao verde (JACOBS, 1993; NATHANS, 1999). No caso dos cetáceos, foram perdidos os cones S no seu processo evolutivo, resultando em monocromacia, característica registrada apenas em algumas espécies de mamíferos terrestres noturnos (PEICHL et al., 2001).

No estudo de Fasick e Robinson (2000) foram identificadas rodopsinas (*i.e.*, pigmentos fotorreceptores de bastonetes) e fotopsinas (*i.e.*, pigmentos fotorreceptores de cones) sensíveis ao espectro de ondas longas (L-) em odontocetos. Os mesmos autores encontraram um gene codificado para responder ao espectro de ondas curtas (S-), porém, o gene continha uma mutação deletéria, que impedia a expressão da proteína S opsina em *Tursiops truncatus* (FASICK, ROBINSON, 2000). Robinson e Newman (2002) utilizaram a técnica de amplificação por PCR dos genes de fotopsinas de cetáceos, sirênios e pinípedes e demonstraram que os cetáceos evoluíram de forma monocromata. Apesar de possuírem o gene S, os cetáceos não expressam a proteína S (ondas curtas), possuindo, portanto, a capacidade de enxergar somente espectros da cor azul, enquanto os sirênios são dicromatas, provavelmente em decorrência dos hábitos herbívoros e os pinípedes se enquadraram em um estágio intermediário de visão colorida (ROBINSON e NEWMAN, 2002).

Estudos demonstram que os cetáceos perderam a opsina sensível a ondas curtas e, nas espécies que fazem profundos mergulhos, como cachalotes (*Physeter macrocephalus*) e baleias-bicuda (família Ziphiidae), assim como em alguns misticetos também houve perda da opsina sensível a ondas longas (PEICHL et al., 2001; MEREDITH et al., 2013). Esses achados sugerem, portanto, que os cetáceos possuem visão monocromática de bastonete (PEICHL et al., 2001; GRIEBEL, 2003; MEREDITH et al., 2013).

O estudo de McGowen e colaboradores (2020) demonstra a evolução molecular da visão nos cetáceos, com pseudogenes expressos em cones na baleia-franca-pigméia (*Caperea marginata*), inferindo que a evolução da visão monocromática em bastonete pode ter ocorrido antes da diversificação dos misticetos.

As adaptações visuais dos cetáceos ao ambiente aquático podem ser divididas em dois tipos principais: as protetivas e as óticas. As adaptações protetivas são as

respostas às condições físicas do ambiente em que vivem; são aprimoramentos estruturais que preparam o olho para enfrentar as propriedades químicas da água doce ou salgada, os microrganismos presentes e as variações extremas de temperatura e pressão. As adaptações óticas, por sua vez, são respostas às propriedades óticas ambientais, como turbidez, refração e iluminação e visam melhorar a acuidade visual (MADSEN e HERMAN, 1980).

Várias estruturas anatômicas nos olhos de cetáceos os protegem de danos mecânicos, como por exemplo, a córnea espessada, para resistir ao aumento da pressão e às baixas temperaturas durante os mergulhos (MASS E SUPIN, 2009). Além disso, as glândulas Harderianas, também presentes nesses animais, produzem uma secreção responsável por proteger os olhos das altas concentrações de sal da água marinha (DAWSON et al., 1972, 1987).

Provavelmente as características mais marcantes dos olhos de cetáceos são a esclera extremamente espessa, o músculo retrator bulbar bem desenvolvido e o seio venoso intraorbitário (rete oftálmica) localizado ao redor do nervo óptico (BJERAGER et al., 2003).

3.3.3 Alterações

Dentre as principais afecções oculares, a que mais afeta mamíferos aquáticos é a úlcera de córnea secundária a traumas, com eventuais infecções secundárias fúngicas e bacterianas, sendo os pinípedes especialmente afetados (COLITZ et al., 2016).

As alterações oculares mais comumente relatadas em cetáceos de vida livre e de cativeiro estão relacionadas à córnea e demais estruturas do segmento anterior, como ceratopatias de origem traumática, inflamatória, infecciosa, cataratas e alterações não-inflamatórias da camada de Bowman (MILLER, et al., 2012; COLITZ et al., 2016; SIMEONE et al., 2017). Entretanto, os estudos disponíveis abordam apenas a oftalmologia de odontocetos, que muitas vezes apresentam lesões corneais advindas do ambiente de cativeiro, relacionadas à qualidade de água e exposição excessiva a raios UV (COLITZ et al., 2019). Colitz e colaboradores (2016), embora ressaltem a importância da saúde ocular para essas espécies, citam o uso da ecolocalização por odontocetos com dificuldades visuais para se deslocar, o que não ocorre com os misticetos.

3.3.4 A córnea

A córnea de cetáceos é mais espessa do que a de mamíferos terrestres. No entanto, ela não é uniforme, e apresenta-se mais delgada no centro e mais espessa na periferia. Quando submersos, a córnea age como uma lente divergente e o feixe de luz, ao atravessá-la, forma uma imagem nítida na retina, de forma que os olhos desses animais sejam classificados como emetrópicos (*i.e.*, estado normal do poder de refração de um olho, onde a imagem de um objeto forma-se sobre a retina) no ambiente aquático. Já o formato esférico das lentes levou à perda de mecanismos de acomodação que estão presentes em mamíferos terrestres, como por exemplo os músculos ciliares, que são pouco desenvolvidos em golfinhos e ausentes na maioria das baleias (MASS e SUPIN, 2007).

Devido ao índice de refração da córnea ser normalmente similar ao da água, a córnea dos mamíferos aquáticos contribui pouco com a refração debaixo d`água, sendo a lente quase totalmente responsável pelo foco da imagem na retina (LISNEY e COLLIN, 2019). Por outro lado, a córnea contribui com refração adicional fora d'água. A necessidade de respirar na superfície faz com que os cetáceos tenham que lidar com os diferentes desafios visuais, com mudanças ambientais de iluminação acima e abaixo da linha da água, portanto os olhos se tornam emetropes quando submersos e míopes na superfície (SUPIN et al., 2012).

3.3.5 Íris e pupilas

As adaptações dos olhos dos cetáceos para visão submersa são evidentes na íris e pupila. A visão dos cetáceos é afetada pelas mudanças na luminosidade durante o mergulho, com grande incidência de luz na superfície, até a ausência de luz em grandes profundidades. Os diferentes espectros de incidência luminosa requerem mudanças no diâmetro pupilar em resposta à intensidade da luz que incide sobre a retina. (MASS e SUPIN, 2007; COLITZ, MONTIANI-FERREIRA, 2022).

A pupila dos cetáceos possui um formato incomum, sendo a parte superior da íris uma estrutura chamada opérculo que, em baixa iluminação, se contrai, e a pupila se torna redonda ou ligeiramente oval, como nos outros mamíferos. Conforme a iluminação aumenta, o opérculo avança para baixo, o que deixa a pupila com uma fenda em formato de U e, com alta iluminação, a fenda se fecha, deixando dois estreitos orifícios nas partes temporal e nasal da íris. Essa característica pupilar é peculiar para a maioria dos odontocetos, como o golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*),

golfinho-comum (*Delphinus delphis*), nos cachalotes (*Physeter macrocephalus*) (MASS e SUPIN, 2007) e em misticetos, como a baleia-cinzenta (*Eschrichtius robustus*) MASS e SUPIN, 1997).

A estrutura laminar da retina dos cetáceos é qualitativamente similar à dos mamíferos terrestres, mas diferem quantitativamente em relação à distribuição das células ganglionares. A retina em cetáceos é bem mais espessa e a camada fotorreceptora é composta predominantemente por bastonetes. Uma forma efetiva de estudar a organização do sistema visual é a avaliação da topografia retiniana e a maior importância se deve à distribuição não uniforme das células ganglionares gigantes na superfície (MASS e SUPIN, 1999). Os misticetos possuem duas áreas de concentração de células ganglionares: uma na região temporal e outra na região nasal da retina (MASS, 1997), e a localização dessas áreas corresponde à posição dos olhos, traços comportamentais e propriedades do habitat. Cabe destacar que em baleias, as células ganglionares são grandes, quando comparadas à outras espécies de cetáceos, porém o motivo ainda é incerto (MASS e SUPIN, 2002; MASS e SUPIN, 2007). Em mamíferos terrestres, a topografia da distribuição das células ganglionares tem sido relacionada à ecologia do animal e, com base em tal metodologia, a organização do campo e a acuidade visual podem ser extrapolados para mamíferos marinhos (MASS e SUPIN, 1999). Essa similaridade de distribuição de células retinais é encontrada quando comparados os cetáceos e os hipopótamos-de-rio (Hippopotamus amphibius) (COIMBRA et al., 2017).

O tapete lúcido está presente em todos os cetáceos, sendo especialmente bem desenvolvido em misticetos. É formado por fibras de colágeno extracelular, recobrindo pelo menos dois terços do fundo do olho, sendo que, em algumas espécies de baleias, o envolve totalmente. Essa cobertura em cetáceos é única entre os mamíferos (GRIEBEL, 2002; MASS e SUPIN, 2007).

Em cetáceos a pressão intraocular muda em decorrência da contração do *musculus retractor bulbi* (músculo retrator do bulbo), que produz um deslocamento axial do bulbo ocular na órbita. Quando o olho é puxado de volta à órbita, a pressão intraocular aumenta e a lente é deslocada para a frente; quando ele é movido para a frente, a pressão diminui e há deslocamento da lente para trás (MASS e SUPIN, 2007).

Em um estudo prévio com baleias-franca-austral (*Eubalaena australis*), demonstrou-se diferença entre o tamanho do bulbo ocular e o comprimento total do animal (apresentando correlação positiva), com observação de maior camada de gordura periocular em animais adultos (BUONO et al., 2012), estudo que foi replicado nesse trabalho com baleias jubarte, para correlacionar o tamanho dos olhos com a faixa etária do animal.

Os componentes mucosos, aquosos e lipídicos do filme lacrimal são essenciais para manter a saúde da superfície ocular, sendo cada um deles responsável por uma função específica. Os dois primeiros atuam na limpeza, lubrificação e proteção da córnea contra partículas e patógenos. A camada lipídica externa, por sua vez, promove estabilidade e retarda a evaporação da fase mucosa-aquosa interna (DAVIS et al., 2013). Essa camada é secretada através da glândula de Meibômio, que está presente em odontocetos, pinípedes e humanos e, ausente, em misticetos (BUTOVICH et al., 2008; DAVIS et al., 2013). O filme lacrimal de cetáceos é hidrofílico e mucoso, sendo mais espesso quando comparado ao filme lacrimal de mamíferos terrestres e pinípedes (COLITZ, MONTIANI-FERREIRA, 2022). A importância dessa substância para a saúde ocular está bem estabelecida para mamíferos terrestres, porém há poucas informações para mamíferos aquáticos. Apesar disso, sabe-se que a arquitetura da glândula ocular e a natureza bioquímica do filme lacrimal desses animais envolvem adaptações para os desafios do ambiente aquático (DAVIS et al., 2013), especialmente a camada de mucinas, essencial para a proteção contra patógenos e injúrias, além de garantir a estabilidade do filme lacrimal. (COLITZ, MONTIANI-FERREIRA, 2022).

3.4 ULTRASSONOGRAFIA OFTÁLMICA EM CETÁCEOS

A técnica da ultrassonografia (US) auxilia na avaliação de forma, tamanho, estrutura e na identificação de alterações em muitos tecidos corpóreos, como pele, músculo, tendões e órgãos internos (HILDEBRANDT e SARAGUSTY, 2015). Especificamente em cetáceos, há limitações, como a espessa camada de gordura subcutânea e a carência de dados morfométricos relacionados aos órgãos e estruturas das espécies. Para cetáceos com até 9 metros de comprimento, exames ultrassonográficos para a avaliação de diferentes partes corpóreas já foram realizados

com transdutores na faixa de frequência entre 2.5 e 10 MHz (DENNISON e SAVIANO, 2019).

Por ser um método não-invasivo e seguro, a US vem sendo utilizada na oftalmologia veterinária, para a avaliação das estruturas intraoculares e do tecido retrobulbar. Sua aplicação é especialmente importante nos casos de opacidade dos meios oculares, que por sua vez, inviabilizam a utilização de métodos de biomicroscopia (*i.e.*, exame usado para avaliação das estruturas do segmento anterior, como córnea, íris, cristalino e o fundo de olho - nervo óptico e retina) e oftalmoscopia direta e indireta (WILLIAMS et al., 1995; OLIVER, 2008). É também considerada uma parte importante da avaliação pré-operatória para cirurgias de catarata, principalmente para a detecção de descolamento de retina em animais, sendo a ultrassonografia em modo B (bidimensional) o método utilizado para a prática clínica oftálmica (OLIVER, 2008).

Em geral, quanto maior a frequência do transdutor utilizado, melhor o grau de resolução da imagem obtida e menor a penetração no tecido avaliado (BENTLEY et al., 2003). Dessa forma, o advento de transdutores de alta frequência, entre 20 e 60 MHz, beneficiou a oftalmologia na visibilização detalhada de estruturas que não podem ser alcançadas pela lâmpada de fenda nos casos de opacidade de meios oculares. Essas ferramentas permitem, portanto, a obtenção de uma imagem detalhada, que pode ser comparada à microscopia de baixa potência (BENTLEY et al., 2003).

Em mamíferos marinhos, a ultrassonografia ocular é utilizada para acompanhamento e diagnóstico, como descrito por Lacave e Huguet (2014), para a detecção precoce de catarata em leões-marinhos (*Zalophus californianus* e *Otaria flavescens*) mantidos em cativeiro e no acompanhamento pós-cirúrgico oftálmico de pinípedes (LACAVE e HUGUET, 2017).

Para o exame oftálmico de cetáceos, entretanto, a depender do tamanho do olho do animal, pode ser necessário o uso de transdutores com frequências acima de 20 MHz, para a obtenção de imagens com alta resolução das estruturas oftálmicas. Quando não disponíveis, é possível a utilização de transdutores de 2 a 12 MHz, com o olho dentro da água, sem necessidade de contato direto transdutor-olho (SAVIANO, 2013). Ainda de acordo com Saviano (2013), um espaço de 1 cm entre o olho e o equipamento, preenchido pela água, permite uma melhor avaliação das câmaras anterior e posterior, da lente e do bulbo ocular.

Os relatos de biometria ocular em cetáceos com técnicas de ultrassonografia são escassos. Em pesquisa realizada com olhos de golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) vivos e *post mortem*, houve diferenças significativas entre as medidas diretas, realizadas nos animais mortos e as feitas com o ultrassom, nos animais vivos. É possível que essas diferenças tenham se dado em decorrência do processo de fixação dos olhos *post mortem*, que pode provocar a retração dos tecidos oculares (CARTEE et al., 1995).

4. MATERIAL E MÉTODO

Os protocolos utilizados na pesquisa estão de acordo com o Sistema de Autorização e Informação de Biodiversidade do Ministério do Meio Ambiente do Brasil (SISBIO autorização nº 72169-4) e aprovado pelo Comitê de Ética da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (nº 71/2019).

4.1 ESPÉCIMES

Foram utilizados para o estudo um total de 21 olhos, provenientes de 19 baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), incluindo dois animais com avaliação bilateral, que foram avaliados e necropsiados a campo. Dentre os animais deste estudo, nove encalharam vivos e dez foram encontrados mortos nas áreas de atuação do Instituto Baleia Jubarte, que compreende os municípios de Aracruz/ES a Belmonte/BA e do Instituto Mamíferos Aquáticos, entre os municípios de Belmonte/BA a Mangue Seco/BA. Após o encalhe e o óbito, foram classificados de acordo com sua condição *post mortem*, como: carcaça de morte recente, em boas condições (Code 2); e em moderado processo de decomposição (Code 3), de acordo com escala de decomposição de Geraci e Lounsbury (2005). Os dados relevantes para a caracterização do encalhe, como, local (praia, município e coordenadas geográficas), data (dia, mês e ano), sexo, fase de vida e dados biométricos foram coletados. Com relação à biometria da carcaça, foram feitas medidas referentes ao comprimento total do animal, desde a extremidade da mandíbula à reentrância caudal (CT), para a determinação da faixa etária, sendo adotadas três classificações: filhote, juvenil e adulta (JEFFERSON et al., 2015).

Foi considerado que a população do estoque A (BSA) de *M. novaeangliae* nascem com comprimento total (CT) entre 3 e 4.5 m, iniciam seu desmame após um ano de idade e atingem maturidade sexual entre 6 e 10 anos de idade, ou ao atingir CT de 11,6 m para os machos e 12 m para as fêmeas (JEFFERSON et al., 2015). Essas medidas são utilizadas como ponto mínimo para a determinação de indivíduos adultos. Com base nessas medidas, utilizou-se o proposto por Boye e colaboradores (2020), que considera como filhotes animais até o primeiro ano de vida, quando se inicia o desmame, sendo classificados como juvenis, animais a partir de 6 m de CT.

4.1.1 Coleta dos espécimes

A enucleação foi realizada a campo, com o uso da técnica transpalpebral, modificada de Maggs e colaboradores (2013) e, para o procedimento, foram utilizados cabos de bisturi, lâminas número 24 e faca magarefe. A técnica utilizada sofreu modificações adaptativas ao tamanho da carcaça e, consequentemente, ao bulbo ocular, sendo realizada incisão transpalpebral arredondada, margeando todo o olho. Para a remoção do bulbo ocular, foi utilizada uma faca magarefe, de modo a preservar parte do nervo óptico. Em animais menores, somente o uso do bisturi pôde garantir a completa enucleação, ao passo que em animais maiores, foi necessário o uso de faca, com emprego de maior força para a enucleação completa. Após a remoção, os bulbos oculares foram acondicionados em caixa de isopor com gelo e mantidos refrigerados por tempo variável (de 6 a 24 horas), antes da fixação. No laboratório de necropsia, uma solução tamponada de formol a 10% foi injetada com uma seringa 10 mL acoplada a uma agulha descartável hipodérmica 40x1,2 mm, na região da câmara vítrea. O volume utilizado variou conforme o tamanho do olho a ser fixado, compreendendo um total entre 30 e 100 mL de solução de formol a 10%. Os olhos foram então acondicionados em recipientes de vidro de dimensão adequada para a imersão completa do órgão, na proporção de 1:10 (amostra:fixador). As amostras foram coletadas por médicos veterinários, sendo cedidas pelo Instituto Baleia Jubarte e pelo Instituto Mamíferos Aquáticos, para fins de pesquisa.

Nem todos os olhos foram passíveis de avaliação biométrica completa, devido à artefatos e má qualidade de preservação das amostras, sendo considerados como "Não Amostrados" (NA) para as medidas inviáveis. Os olhos que foram identificados com luxação de lente também tiveram algumas medidas inviabilizadas, identificadas como Luxação de Lente (LL).

4.2 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

As peças foram submetidas à avaliação ultrassonográfica no Setor de Imagem do Hospital de Medicina Veterinária Professor Renato Rodenburg de Medeiros Netto (Hospmev), da Universidade Federal da Bahia (Salvador/BA), para estudo morfológico. Foram avaliados 21 olhos provenientes de 19 animais, 15 deles classificados como

filhotes (total de 16 olhos), três como juvenis (total de quatro olhos) e um como adulto (um olho).

Para a análise ultrassonográfica, os olhos foram submersos em uma bacia plástica com água e analisados com o equipamento de ultrassonografia portátil modelo Logiq-e® (GE Medical Systems©, Wuxi, China) e com os transdutores Linear 12 L (faixa de frequência entre 7 e 12 MHz) e convexo 4C-RS (faixa de frequência entre 2,0 e 5,5 MHz), nos eixos axial e equatorial. Para questões de nomenclatura, foram adotados os termos direcionais propostos por Zhu e colaboradores (2001), de acordo com a anatomia dos misticetos, sendo "lateral", referente à superfície externa, onde se projeta a córnea, "medial", referente à superfície interna onde se projeta o nervo ótico, "rostral", se referindo à extremidade do olho voltada para o rostro e, "caudal", referente à extremidade voltada para a nadadeira caudal.

Foram submetidos à avaliação biométrica e mensuradas a largura (LB) e comprimento axial do bulbo (CAB) (da superfície rostral da córnea ao fundo do olho, entre a retina e a coroide), espessuras da cartilagem escleral no centro do olho (ECE0), e do fundo do olho até a margem lateral e medial (ECE1 e ECE2), espessuras da córnea no centro (EC0) e nas extremidades (EC1 e EC2), espessura da câmara anterior (ECA), espessura (EL) e diâmetro da lente (DL), espessura da câmara posterior (ECP), vítreo (V), espessura do corpo ciliar (ECC) e diâmetro do nervo óptico (DNO), além de análise de varredura no vítreo e mensurações de estrutura filamentar encontrada em grande parte dos olhos avaliados por imagem (Figura 2).

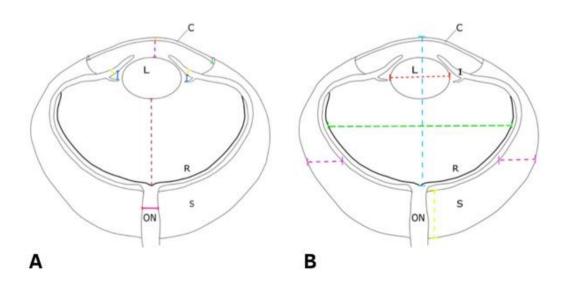


Figura 2 — Desenho esquemático da biometria ultrassonográfica realizada em olho de *Megaptera novaeangliae*. **A:** Mensuração ultrassonográfica da espessura da cómea (em cm) no centro (marcado em linha laranja contínua), e nas extremidades (marcadores em linhas contínuas verdes). Mensuração da câmara anterior em linha tracejada roxa. Mensuração da íris em linhas amarelas contínuas. Mensuração da câmara posterior em linhas tracejadas marrons. Mensuração do diâmetro do nervo óptico em linha contínua rosa. **B:** Mensuração do comprimento axial do bulbo em linha tracejada azul, mensuração do diâmetro da lente em linha tracejada vermelha. Mensuração da largura do bulbo em linha tracejada verde. Mensuração da espessura da cartilagem escleral no centro em linha tracejada amarela e nas extremidades em linha tracejada rosa.

As medidas foram aferidas com ferramentas do próprio equipamento ultrassonográfico, e medidas abaixo de 0,05 cm foram consideradas como zero (0) (Figura 3).

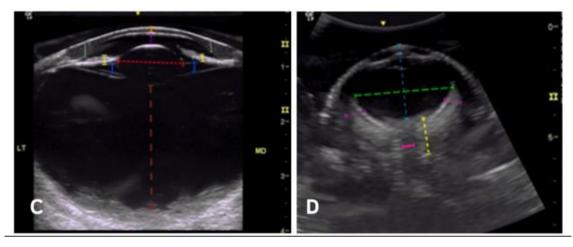


Figura 3 – Imagens ultrassonográficas de olhos de *Megaptera novaeangliae*. **C:** Mensuração da espessura da cómea (marcador em linha contínua laranja), e nas extremidades (marcadores em linhas contínuas verdes). Mensuração da câmara anterior em linha tracejada roxa. Mensuração da íris, em linha contínua amarela. Mensuração da câmara posterior (em linha tracejada marrom). Mensuração do diâmetro do nervo óptico (em linha rosa contínua). **D:** Mensuração do comprimento axial do bulbo em linha tracejada azul, mensuração do diâmetro da lente em linha tracejada vermelha. Mensuração da altura do bulbo em linha tracejada azul. Mensuração do diâmetro da lente em linha tracejada vermelha. Mensuração da largura do bulbo em linha tracejada verde. Mensuração da espessura da cartilagem escleral no centro (marcador em linha tracejada amarela) e nas extremidades (marcador em linha rosa tracejada). Siglas: **C:** córnea / **I:** íris / **R:** retina / **S:** esclera / **ON:** nervo óptico

4.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

As peças anatômicas, previamente fixadas em campo com formol 10%, foram enviadas ao Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal da Bahia (LPV-UFBA) para análise histológica. Nessa etapa, foram selecionados 13 olhos oriundos de 10 animais. O critério de seleção baseou-se nos olhos mais conservados, oriundos de animais classificados como código 2 (GERACI e LOUNSBURY, 2005), de forma a não comprometer as análises. Os olhos foram fotografados utilizando uma máquina fotográfica Canon EOS Rebel T6 com uma lente de 75-300mm.

Foi realizada biometria das peças, utilizando-se um paquímetro digital (Mitutoyo® 500-196-30B, Takatsu-ku, Kanagawa). A biometria foi tomada em mm, considerando as medidas de diâmetro de nervo óptico em porção distal e proximal, largura, altura e comprimento do bulbo ocular, e por fim, largura e altura da córnea (Figura 4).

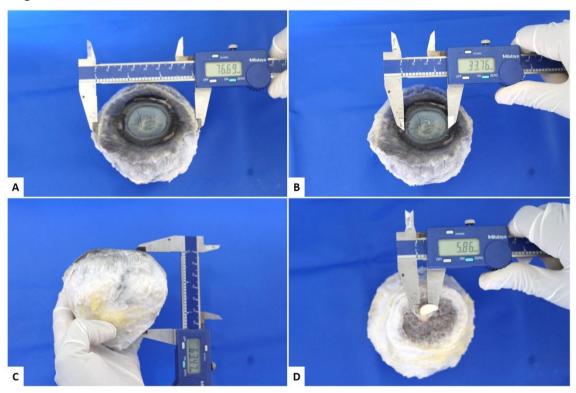


Figura 4 – Biometria do bulbo ocular de *Megaptera novaeangliae*. **A:** Largura do bulbo ocular. **B:** Largura da córnea. **C:** Altura do bulbo ocular. **D:** Diâmetro do nervo óptico.

Em seguida, as peças foram seccionadas em um corte sagital, as estruturas foram acondicionadas em cassetes histológicos e mantidas em formol tamponado a 10%, exceto as lentes, que foram mantidas separadas, em solução de ácido fórmico, por 72 horas e depois acondicionadas em formol por mais 24 horas. As estruturas colhidas para

a análise histológica foram córneas, conjuntiva bulbar, esclera, íris, retina, coroide, nervo óptico, rede vascular e estrutura de sustentação (Figura 5).



Figura 5 – Bulbo ocular de *Megaptera novaeangliae*, **corte sagital. A.** Esclera (seta preta); Nervo óptico (seta vermelha). **B.** Lente; Humor vítreo; Estrutura conectada à lente e nervo óptico (estrutura de sustentação - seta vermelha).

O processamento histológico seguiu a técnica rotineira de inclusão em parafina (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Após a clivagem todos os fragmentos das amostras foram colocados em cassetes histológicos devidamente identificados, com o número de registro gerado no LPV-UFBA, e acondicionados em um novo recipiente com solução fixadora de formol a 10% por um período mínimo de 24 horas. Ocorrido o tempo de fixação, o material passou pelo processo de desidratação em álcoois a 70%, 80%, 90% e 100%, diafinização em solução de xilol I e II, embebição em parafina I e II, inclusão em parafina, microtomia para cortes histológicos medindo 4µm e corados pela técnica rotineira de hematoxilina-eosina (HE), para uma observação geral dos constituintes celulares e teciduais e pela coloração especial tricrômico de Masson (TM), para caracterização e discriminação de diferentes tecidos conjuntivos e componentes de tecidos moles. Ao fim desta etapa, seguiu-se a análise dos cortes histológicos em microscópio óptico, com câmera acoplada para captura das imagens (Microscópio Zeiss, Scope A.1 / AX10 Axion Cam ICc5).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a tabulação dos dados, foram realizadas análises descritivas dos resultados obtidos. As medidas descritas foram analisadas quanto à sua média, mediana e desvio

padrão, além de terem sido agrupadas por faixa etária, A avaliação dos filhotes foi feita separadamente, uma vez que o "n" amostral dos adultos (n=1) e dos juvenis (n=4) foram insuficientes para as análises individuais e, para os testes estatísticos, foram utilizados apenas os animais classificados como filhotes e juvenis. Devido à impossibilidade de determinar as extremidades rostral e caudal dos bulbos oculares, as medidas da espessura da cartilagem da esclera nas duas extremidades (ECE1 e ECE2), foram consideradas como uma única medida igual a média das duas medidas (ECEM). O mesmo teste foi aplicado para as medidas de espessura de córnea nas extremidades (ECM). Sendo assim, as variáveis analisadas foram: largura do bulbo (LB), comprimento axial do bulbo (CAB), espessura da cartilagem escleral no centro (ECEO), média da espessura da cartilagem da esclera nas duas extremidades (ECEM), espessura da córnea no centro (ECO), espessura da córnea nas extremidades (ECM), espessura da câmara anterior (ECA), espessura e diâmetro da lente (EL e DL), espessura da câmara posterior (ECP), vítreo (V), espessura do corpo ciliar (ECC) e diâmetro do nervo óptico. Medidas consideradas zero foram excluídas das análises. Na comparação das médias entre os grupos, para as variáveis "faixa etária" e "sexo", foi aplicado o teste T de Student para amostras independentes. A análise de correlação de Pearson foi aplicada para avaliar as possíveis correlações entre o CT e os demais parâmetros avaliados. O nível de significância adotado foi de p<0,05, para o intervalo de confiança de 95%, com análise bicaudal. O programa estatístico SPPS® 26.0 para Windows foi utilizado para as análises estatísticas.

5. RESULTADOS

Os animais estudados encalharam entre os municípios de Linhares/ES e Salvador/BA, entre os anos de 2001 e 2019 (Figura 6). Dezessete carcaças se encontravam frescas, classificadas como código 2, e apenas duas como código 3. A maior parte dos indivíduos (78,9%; n=15) era composta por filhotes, com apenas um animal adulto (5,3%) e três juvenis (15,8%). Os sexos foram definidos em 89,5% dos animais (n=17), sendo dois considerados indeterminados (10,5%) por inacessibilidade às gônadas. Dentre os indivíduos de sexo determinado, 12 indivíduos eram machos e cinco eram fêmeas. Os dados estão dispostos na Tabela 1.

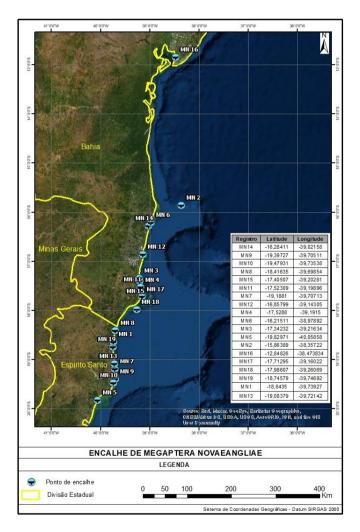


Figura 6 - Mapa de ocorrências de Megaptera novaeangliae utilizadas no estudo

Tabela 1: Dados coletados de indivíduos de *Megaptera novaeangliae* encalhados em praias da Bahia e Espírito Santo e utilizados para o estudo

Identificação	Olho	Code	Condição	Data de	Município/UF	СТ	Faixa	Sexo
			no	necropsia		(M)	etária	
			encalhe					
MN1	Ambos	2	Vivo	11/08/2016	São	4,27	Filhote	Macho
					Mateus/ES			
MN2	Esquerdo	2	Morto	28/08/2001	Belmonte/BA	4,79	Filhote	Macho
MN3	Direito	2	Vivo	30/09/2013	Prado/BA	4	Filhote	Macho
MN4	Direito	2	Morto	10/10/2014	Alcobaça/BA	5,15	Filhote	Fêmea
MN5	Esquerdo	2	Vivo	08/09/2013	Linhares/ES	3,5	Filhote	Macho
MN6	Indetermi	3	Morto	10/10/2013	Santa Cruz	4,5	Filhote	Macho
	nado				Cabrália/BA			
MN7	Ambos	2	Vivo	30/08/2016	Linhares/ES	4,54	Filhote	Macho
MN8	Indetermi	2	Vivo	31/07/2017	Conceição da	4,2	Filhote	Fêmea
	nado				Barra/ES			
MN9	Direito	2	Morto	17/08/2017	Linhares/ES	4,3	Filhote	Fêmea
MN10	Esquerdo	2	Morto	13/08/2017	Linhares/ES	4,15	Filhote	Fêmea
MN11	Direito	3	Morto	16/06/2017	Caravelas/BA	7,05	Juvenil	Macho
MN12	Direito	2	Morto	31/07/2016	Porto	3,74	Filhote	Macho
					Seguro/BA			
MN13	Ambos	2	Vivo	04/08/2017	São	10,3	Juvenil	Macho
					Mateus/ES			
MN14	Indetermi	2	Vivo	16/07/2018	Santa Cruz	3,92	Filhote	Macho
	nado				Cabrália/BA			
MN15	Esquerdo	2	Morto	28/07/2017	Prado/BA	4,45	Filhote	Macho
MN16	Indetermi	2	Vivo	30/08/2019	Salvador/BA	14,2	Adulto	Indetermi
	nado							nado
	С							
MN17	Direito	2	Morto	09/09/2019	São	4,2	Filhote	Fêmea
					Mateus/ES		_	
MN18	Direito	2	Vivo	27/07/2019	Nova	9,2	Juvenil	Indetermi
MANAO	Dissits	0	Marta	00/07/0040	Viçosa/BA	4.4	Elle e 4	nado
MN19	Direito	2	Morto	28/07/2019	São Motous/ES	4,1	Filhote	Macho
					Mateus/ES			

5.1 MENSURAÇÃO MACROSCÓPICA

Os dados morfométricos coletados de 20 olhos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Dados biométricos dos olhos de *Megaptera novaeangliae* obtidos através de ultrassonografia (em cm)

ID	CT	LB	CA	ECE	ECE	ECE	EC0	EC1	EC2	EC	EL	DL	V	ECP	EC	DNO
			В	0	1	2				A					C	
MN1	4,27	4,61	3,33	1,06	1	1,3	0,18	0,34	0,34	0,08	0,73	1,16	2,39	0,25	0,11	0,51
	4,27	4,82	3,65	1,35	1,27	1,19	0,1	0,3	0,28	0,21	0,89	1,23	2,48	0,31	0,12	0,5
MN2	4,79	4,63	2,99	0,95	1,08	1,15	0,18	0,28	0,3	LL	0,68	0,94	LL	LL	0,07	0,49
MN3	4	4,44	3,44	1,07	1,16	1,4	0,2	0,3	0,32	0,13	0,78	1,14	2,38	0,22	0,11	0,5
MN4	5,15	5,4	3,8	0,83	1,22	1,34	0,19	0,34	0,37	0,15	0,77	1,23	2,66	0,28	0,14	0,59
MN5	3,5	4,59	3,7	1	1,22	1,27	0,19	0,31	0,33	0,14	0,59	1,18	2,76	0,21	0,1	0,58
MN6	4,5	4,9	3,55	0,97	1,04	1	0,18	0,29	0,32	0,1	0,76	1,3	2,52	0,24	0,08	0,35
MN7	4,54	4,88	3,04	1,25	1,13	1,19	0,18	0,28	0,3	0	0,82	1,31	2,08	0,2	0,07	0,41
MN8	4,2	4,6	4,82	1	1,14	1,16	0,1	0,23	0,18	0,2	0,57	1,09	1,06	NA	0,13	NA
MN9	4,3	4,35	3,15	1,09	1,14	1,2	0,15	0,31	0,32	0	0,71	1,2	2,29	0,16	0,08	0,56
MN10	4,15	4,78	3,28	0,91	1	1,03	0,18	0,35	0,32	0,11	0,69	1,18	2,31	0,18	0,07	0,44
MN11	7,05	5,2	3	1,6	1,1	1,1	0	0,28	NA							
MN12	3,74	4,49	2,88	0,88	1,17	1,23	0,15	0,31	0,31	0	0,62	1,07	2,09	0,27	0,09	0,62
MN13	10,3	4,52	2,98	1,06	1,14	1,4	0,18	0,36	0,32	NA	NA	1,03	LL	LL	0,14	0,58
	5															
	10,3	5,5	3,51	0,96	1,22	1,27	0,14	0,27	0,27	0	0,84	1,5	2,59	0,18	0,13	0,65
	5															
MN14	3,92	5,22	3,67	0	0,48	0,54	0,22	0,34	0,36	0,23	0,66	1,09	2,54	NA	0,15	0,48
MN15	4,45	4,55	3,12	0,78	0,94	1,15	0,19	0,32	0,29	NA	NA	1,1	LL	LL	0,12	0,6
MN17	4,2	5,07	2,45	1	1,2	1,3	0,18	0,32	0,35	0	0,75	1,08	NA	LL	0,12	0,59
MN18	9,2	5,38	3	1,11	1,39	1,42	0,13	0,31	0,3	0	0,86	1,48	1,98	0,32	0,1	0,6
MN19	4,1	4,63	2,91	1	1,3	1,3	0,16	0,25	0,26	0	0,67	1,24	2,1	0,18	0,1	0,38

NA = Não amostrado devido à artefato de fixação

LL = Medida inviabilizada por luxação de lente

ID = Identificação do indivíduo; CT = Comprimento total; LB = Largura do bulbo; CAB = Comprimento do bulbo; ECE0 = Espessura da cartilagem escleral no centro; ECE1 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 1; ECE2 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 2; ECO = Espessura da Córnea no Centro; EC1 = Espessura da Córnea na Extremidade 1; EC2 = Espessura da Córnea da Extremidade 2; ECA = Espessura da Câmara Anterior; EL = Espessura da Lente; DL = Diâmetro da Lente; V = Vítreo; ECP = Espessura da câmara posterior; ECC = Espessura do Corpo Ciliar; DNO = Diâmetro do Nervo Ótico.

As análises estatísticas descritivas dos dados unificados de todos os olhos analisados estão apresentadas na Tabela 3 e os dados referentes apenas aos filhotes na Tabela 4. De maneira geral, as médias das variáveis se apresentaram menores na análise dos filhotes, com exceção das medidas de EC0 (espessura da córnea no centro), com média igual para os dois grupos (0,17 cm) e V (vítreo), com média geral para os dois grupos (2,27 cm) e CAB (comprimento axial do bulbo) (média geral = 3,31 cm; média no grupo filhotes = 3,41 cm) que apresentaram médias mais altas nos filhotes quando comparadas aos valores unificados.

Tabela 3: Análises descritivas das medidas biométricas de olhos de *Megaptera novaeangliae*, através da ultrassonografia (em cm).

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Mediana
LB	18	4,35	5,40	4,82	0,32	4,75
ECE0	17	0,78	1,6	1,04	0,19	1,0
ECEM	18	0,51	1,41	1,15	0,19	1,18
EC0	17	0,1	0,22	0,17	0,03	0,18
ECM	18	0,21	0,36	0,30	0,03	0,30
ECA	8	0,1	0,23	0,15	0,04	0,14
EL	16	0,57	0,86	0,72	0,09	0,73
DL	17	0.94	1,48	1,18	0,12	1,18
V	14	1,06	2,76	2,27	0,42	2,34
CAB	18	2.45	4.82	3,31	0,51	3,20
ECP	12	0,16	0,32	0,23	0,05	0,21
ECC	17	0,07	0,15	0,10	0,02	0,1
DNO	16	0,35	0,62	0,52	0,09	0,53

LB = Largura do bulbo; ECE0 = Espessura da cartilagem escleral no centro; ECEM = Média da Espessura da Cartilagem Escleral nas duas extremidades 1; EC0 = Espessura da Córnea no Centro; ECM = Média da Espessura da Córnea nas duas Extremidades; ECA = Espessura da Câmara Anterior; EL = Espessura da Lente; DL = Diâmetro da Lente; V = Vítreo; CAB = Comprimento do bulbo; ECP = Espessura da câmara posterior; ECC = Espessura do Corpo Ciliar; DNO = Diâmetro do Nervo Ótico.

Tabela 4: Análises descritivas das medidas biométricas de olhos de filhotes de *Megaptera novaeangliae* através da ultrassonografia (em cm). em faixa etária filhote

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Mediana
LB	14	4,35	5,4	4,73	0,29	4,63
ECE0	13	0,78	1,25	0,99	0,13	1,0
ECEM	14	0,51	1,3	1,12	0,20	1,16
EC0	14	0,1	0,22	0,17	0,03	0,18
ECM	14	0,23	0,36	0,30	0,04	0,31
ECA	8	0,1	0,23	0,15	0,04	0,14
EL	13	0,57	0,082	0,70	0,08	0,69
DL	14	0,94	1,31	1,16	0,1	1,18
V	12	1,06	2,76	2,27	0,044	2,34
CAB	14	2,88	4,82	3,42	0,51	3,36
ECP	10	0,16	0,28	0,22	0,04	0,21
ECC	14	0,07	0,15	0,1	0,03	0,1
DNO	13	0,35	0,62	0,5	0,09	0,5

LB = Largura do bulbo; ECE0 = Espessura da cartilagem escleral no centro; ECEM = Média da Espessura da Cartilagem Escleral nas duas extremidades 1; EC0 = Espessura da Córnea no Centro; ECM = Média da Espessura da Córnea nas duas Extremidades; ECA = Espessura da Câmara Anterior; EL = Espessura da Lente; DL = Diâmetro da Lente; V = Vítreo; CAB = Comprimento do bulbo; ECP = Espessura da câmara posterior; ECC = Espessura do Corpo Ciliar; DNO = Diâmetro do Nervo Ótico.

Os resultados das análises de correlação de Pearson estão expressos na Tabela 5, e demonstram que o Comprimento Total (CT) dos animais estudados possui uma

correlação positiva moderada com as variáveis Largura do Bulbo (LB) (r= 0,021), Espessura da Lente (EL) (r= 0,010) e Diâmetro da Lente (DL) (r=0,020).

Tabela 5: Análise de correlação de Pearson das medidas biométricas de olhos de *Megaptera novaeangliae* (em cm) relacionadas ao comprimento total do animal (CT).

	ρ	r
LB	0,539	0,021*
ECE0	0,283	0,256
ECEM	0,310	0,211
EC0	-0,375	0,126
ECM	-0,049	0,847
ECA	-0,384	0,158
EL	0,625	0,010*
DL	0,556	0,020*
V	0,049	0,868
CAB	-0,167	0,507
ECP	0,180	0,576
ECC	0,203	0,435
DNO	0,359	0,172

^{*} Correlação estatisticamente significativa

LB = Largura do bulbo; ECE0 = Espessura da cartilagem escleral no centro; ECE1 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 1; ECE2 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 2; EC0 = Espessura da Córnea no Centro; EC1 = Espessura da Córnea na Extremidade 1; EC2 = Espessura da Córnea da Extremidade 2; ECA = Espessura da Câmara Anterior; EL = Espessura da Lente; DL = Diâmetro da Lente; V = Vítreo; CAB = Comprimento do bulbo; ECP = Espessura da câmara posterior; ECC = Espessura do Corpo Ciliar; DNO = Diâmetro do Nervo Ótico.

Considerando o CT, as medidas biométricas dos olhos avaliados e a sua comparação com a faixa etária de filhotes e juvenis, as seguintes variáveis apresentaram diferenças significativas nas médias de acordo com a faixa etária: CT (p = 0.040); LB (p = 0.019); EC0 (p = 0.012); EL (p = 0.028); DL (p = 0.018). Os resultados são demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6: Diferenças no comprimento total do animal e nas medidas biométricas de olhos de *Megaptera* novaeangliae (em cm) quanto a faixa etária.

Faixa etária			
	Filhote (n=16)	Juvenil (n=4)	
	Média (± DP)	Média (± DP)	p- valor
CT	4,26 (±0,11)	8,87 (±0,97)	0,040*
LB	4,73 (0,08)	5,20 (±0,11)	0,019*
ECE0	$0,92\ (\pm0,08)$	1,24 (±0,31)	0,216
ECEM	$1,12~(\pm0,05)$	$1,25~(\pm~0,09)$	0,268
EC0	$0.17 (\pm 0.008)$	$0,097\ (\pm0,049)$	0,012*
ECM	$0,30\ (\pm0,04)$	$0,30\ (\pm0,008)$	0,743
ECA	0,1 (±0,02)	0	0,120
EL	$0,70~(\pm 0,02)$	0,85 (±0,01)	0,028*
DL	1,16 (±0,03)	1,37 (±0,11)	0,018*
V	2,27 (±0,13)	2,28 (±0,3)	0,962
CAB	3,42 (±0,13)	3,08 (±0,08)	0,284
ECP	$0,22 \ (\pm 0,01)$	0,25 (±0,07)	0,504
ECC	$0,10~(\pm~0,007)$	$0.12 (\pm 0.017)$	0,447
DNO	0,5 (±0,024)	0,61 (±0,007)	0,117

Teste estatístico: Teste T de Student

CT = Comprimento total; LB = Largura do bulbo; CAB = Comprimento do bulbo; ECE0 = Espessura da cartilagem escleral no centro; ECE1 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 1; ECE2 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 2; EC0 = Espessura da Córnea no Centro; EC1 = Espessura da Córnea na Extremidade 1; EC2 = Espessura da Córnea da Extremidade 2; ECA = Espessura da Câmara Anterior; EL = Espessura da Lente; DL = Diâmetro da Lente; V = Vítreo; ECP = Espessura da câmara posterior; ECC = Espessura do Corpo Ciliar; DNO = Diâmetro do Nervo Ótico.

Por fim, considerando o CT e demais medidas biométricas dos olhos em comparação ao sexo, não foram encontradas diferenças significativas nas variáveis (Tabela 7).

^{*} Diferença estatisticamente significativa.

Tabela 7: Diferenças no crescimento do animal e nas medidas biométricas de olhos de *Megaptera novaeangliae* (em cm) quanto ao sexo.

Sexo			
	Macho (n=13)	Fêmea (n=5)	
	Média (± DP)	Média (± DP)	p- valor
СТ	4,93 (±0,56)	4,4 (±0,19)	0,556
LB	4,77 (0,08)	4,84 (±0,18)	0,684
ECE0	0,98 (±0,11)	0,97 (±0,04)	0,953
ECEM	1,12 (±0,06)	$1,17 \ (\pm \ 0,05)$	0,596
EC0	0,16 (±0,06)	0,16 (±0,01)	0,928
ECM	0,30 (±0,007)	0,31 (±0,03)	0,760
ECA	$0.08 (\pm 0.03)$	0,09 (±0,04)	0,853
EL	0,72 (±0,03)	0,70 (±0,03)	0,606
DL	1,17 (±0,04)	1,16 (±0,03)	0,853
V	2,39 (±0,08)	2,08 (±0,35)	0,250
CAB	3,25 (±0,09)	3,5 (±0,39)	0,389
ECP	0,22 (±0,01)	0,21 (±0,04)	0,618
ECC	$0.1 (\pm 0.008)$	0,11 (±0,014)	0,772
DNO	0,5 (±0,028)	0,54 (±0,036)	0,434

Teste estatístico: Teste T de Student

CT = Comprimento total; LB = Largura do bulbo; CAB = Comprimento do bulbo; ECE0 = Espessura da cartilagem escleral no centro; ECE1 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 1; ECE2 = Espessura da Cartilagem Escleral na extremidade 2; EC0 = Espessura da Córnea no Centro; EC1 = Espessura da Córnea na Extremidade 1; EC2 = Espessura da Córnea da Extremidade 2; ECA = Espessura da Câmara Anterior; EL = Espessura da Lente; DL = Diâmetro da Lente; V = Vítreo; ECP = Espessura da câmara posterior; ECC = Espessura do Corpo Ciliar; DNO = Diâmetro do Nervo Ótico.

Há uma correlação estatística positiva moderada entre o tamanho do animal e a largura do bulbo ocular (p=0,021) e espessura e diâmetro da lente (p=0,010 e p=0,020, respectivamente). Quando comparados os grupos de filhotes e juvenis, as seguintes variáveis apresentaram diferenças significativas nas médias, de acordo com a faixa etária: comprimento total (p=0,040); largura do bulbo (p=0,019); espessura da córnea no centro (p=0,012); espessura da lente (p=0,028); diâmetro da lente (p=0,018).

5.2 ANÁLISES ULTRASSONOGRÁFICAS E HISTOLÓGICAS

5.2.1 Córnea

^{*} Diferença estatisticamente significativa.

De acordo com os achados ultrassonográficos, a córnea desses animais é mais delgada no centro do olho e mais espessa na periferia, contornada por duas linhas finas hiperecogênicas (externa e interna), bem delimitada e preenchida por tecido homogêneo hipoecogênico.

Histologicamente, a córnea é dividida em cinco camadas: epitelial, membrana de Bowman, estroma, células endoteliais e membrana de Descement. A camada epitelial é formada por cerca de 13 camadas de células, separadas do estroma pela membrana de Bowman. O estroma é espesso e formado por múltiplas camadas de fibras de colágeno, paralelas. Em seguida, se observa a membrana de Descement (Figura 7).

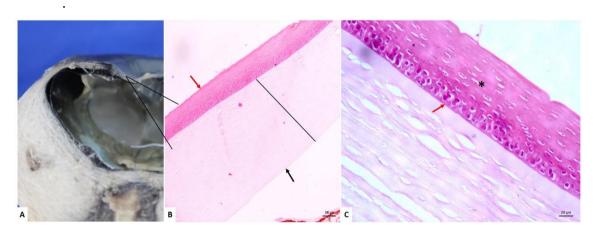


Figura 7 - Bulbo ocular de *Megaptera novaeangliae*, com visualização da córnea. **A.** Imagem macroscópica da córnea, corte sagital do bulbo ocular. **B.** Fotomicrografia da córnea (corte sagital), evidenciando as cinco camadas da córnea: epitélio anterior (seta vermelha), membrana de Bowman, estroma (linha preta), membrana de Descement e endotélio (seta preta). **C.** Fotomicrografia da córnea (corte sagital), evidenciando o epitélio corneal (asterisco), constituído por cerca de 13 camadas de células. Notar a membrana de Bowman abaixo do epitélio corneal (seta vermelha). HE, 10x e 20x, respectivamente.

5.2.2 Câmara anterior

O segmento anterior é bem estreito e, em seu eixo central, a superfície interna da córnea quase encosta na superfície anterior da lente.

5.2.3 Lente

Possui formato ovalado, com a superfície biconvexa, delgada, hiperecogênica e com o centro anecogênico. Na altura da junção da córnea/esclera e circundando a lente, separando a parte anterior da câmara vítrea, há um tecido que acompanha toda a lente.

Esse tecido, fino e hiperecogênico corresponde ao corpo ciliar e à íris e é levemente irregular e grosseiro.

5.2.4 Íris

Observada ultrassonograficamente, a íris se une ao corpo ciliar, com linhas duplas dispostas paralelamente.

A íris, ao exame histológico, apresenta borda livre, dividida em epitélio anterior ou camada epitelial externa, direcionada para a córnea e em epitélio posterior ou camada epitelial interna, intensamente pigmentada, voltada para a lente. O estroma é constituído por tecido conjuntivo frouxo, com grande quantidade de vasos sanguíneos, com ramificações da artéria irídica radial e vênulas coletoras, pelo músculo esfíncter da pupila e, na base da camada pigmentar, pelo músculo dilatador (Figura 8). O músculo dilatador da íris é pouco desenvolvido, enquanto o músculo esfíncter apresenta maior desenvolvimento. A camada epitelial externa estende-se desde a margem da pupila até a periferia da íris, constituída quase inteiramente de melanócitos, que aumentam em número em direção à margem da pupila. O estroma subjacente a esta camada apresenta uma grande quantidade de vasos sanguíneos e melanócitos intercalados, livres no tecido conectivo. Na camada epitelial interna, o epitélio se insinua na direção da câmara vítrea, formada principalmente por melanócitos. Em direção à periferia, a íris é contínua com o corpo ciliar (músculo ciliar), com um formato triangular, sendo composta por músculo liso, disposto longitudinalmente. Apresenta em sua região mais externa, estruturas ciliares, chamadas de processos ciliares, que possuem em sua constituição tecido conjuntivo com células pigmentadas e capilares sanguíneos.

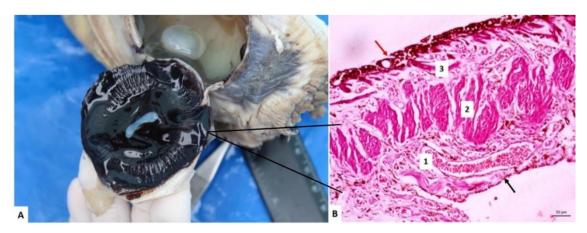


Figura 8 - Bulbo ocular de *Megaptera novaeangliae*. **A.** Imagem macroscópica da íris, corte transversal do bulbo ocular. **B. Fotomicrografia da íris, borda livre. Corte sagital.** Camada epitelial externa (seta

preta); Camada epitelial interna (seta vermelha); 1. Estroma; 2. Músculo esfíncter da pupila; 3. Músculo dilatador da pupila. HE, 20x.

5.2.5 Retina

À imagem ultrassonográfica, a retina se apresenta como uma superfície hiperecogênica lisa e delgada, que reveste a câmara vítrea internamente. Não foi possível discerni-la da coroide, através do ultrassom, com o transdutor utilizado nesse estudo.

Histologicamente, a retina é constituída por dez camadas fotossensíveis, sendo elas: epitélio pigmentar, bastonetes e cones, membrana limitante externa, camada nuclear externa, plexiforme externa, camada nuclear interna, camada plexiforme interna, camada de células ganglionares, camada de fibras do nervo óptico e membrana limitante interna (Figura 9).

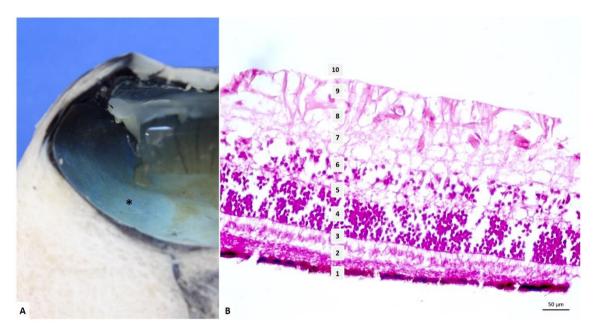


Figura 9 - Bulbo ocular de *Megaptera novaeangliae*, A. Imagem macroscópica da córnea (asterisco), corte sagital do bulbo ocular. B. Fotomicrografia da córnea. Camadas fotossensíveis: 1. Epitélio pigmentar; 2. Bastonetes e cones; 3. Membrana limitante externa; 4. Camada nuclear externa; 5. Camada plexiforme externa; 6. Camada nuclear interna; 7. Camada plexiforme interna; 8. Camada de células ganglionares; 9. Camada de fibras do nervo óptico e 10. Membrana limitante interna HE, 20x.

5.2.6 Câmara vítrea

É preenchida por conteúdo líquido anecogênico e possui a estrutura centralmente posicionada e na câmara vítrea se observa estrutura em formato triangular, filamentar,

com superfície retilínea, ecotextura grosseira, ecogenicidade mista, porém, predominantemente hipoecogênica. Essa estrutura tem seu ápice aderido ao fundo do olho, em região próxima ao nervo óptico, e sua base aparenta estar aderida caudalmente corpo ciliar. O ponto exato de inserção não foi observado em decorrência da sombra acústica da lente. Com utilização de transdutor em 90 graus, a estrutura observada é delgada.

5.2.7 Estrutura intraocular

Em parte dos olhos estudados (n=14; 73,7%) observou-se uma estrutura intraocular não descrita em Artiodáctilos na literatura consultada e, macroscopicamente, ela foi mais visível no animal adulto, comparativamente com os olhos de animais filhotes e juvenis. À análise ultrassonográfica, apresenta-se como estrutura filamentar ecogênica, que se origina próxima ao nervo óptico, posicionada centralmente e inserida no fundo do olho, que se pronuncia para dentro do vítreo, até a parte posterior da lente. Essa inserção, por sua vez, não é notada, em decorrência da sombra acústica posterior que ela produz. À análise histológica, essa estrutura se origina a partir da região central do nervo óptico, e estende-se por toda a câmara vítrea até se ligar à lente. Seu arcabouço é formado por tecido conjuntivo frouxo, entremeado por vasos sanguíneos (Figura 10).

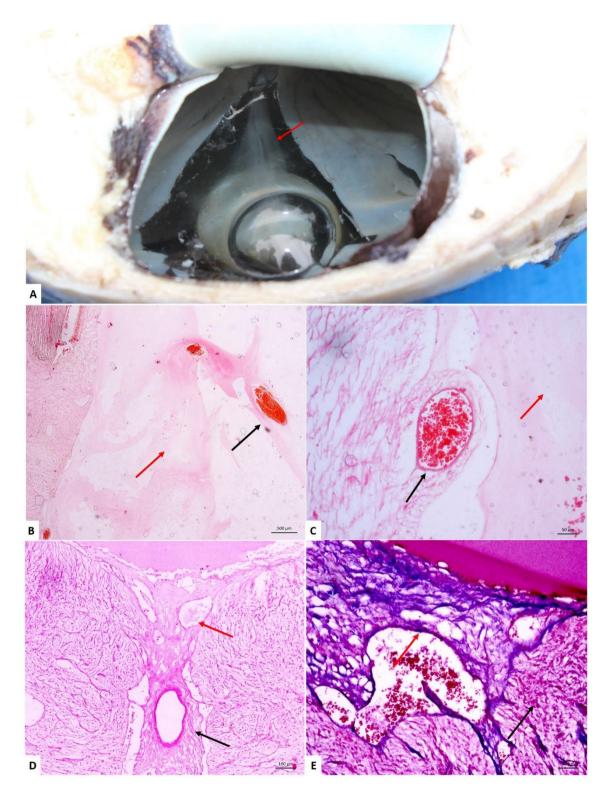


Figura 10 - Bulbo ocular de *Megaptera novaeangliae*. **A.** Imagem macroscópica do olho de animal adulto, notar estrutura interna (seta vermelha). **B - E. Fotomicrografias de nervo óptico e estrutura intraocular. B e C.** Estrutura intraocular (setas vermelhas) mostrando vascularização presente na estrutura (setas pretas). **D e E.** Inserção da estrutura no nervo óptico mostrando vascularização (setas vermelhas), artéria central da retina e tecido conjuntivo adjacente (imagem D seta preta) e lâmina crivosa da esclera (imagem E - seta preta). HE e TM, 2,5x, 10x e 20x.

5.2.8 Coroide

A coroide se estende do nervo óptico ao corpo ciliar. Histologicamente, a lâmina supracoroide apresenta numerosos melanócitos distribuídos em rede de tecido conjuntivo, adjacente à lâmina vascular da coroide, enquanto a lâmina capilar da coroide ou coriocapilar apresentou capilares distribuídos em único plano (Figura 11).

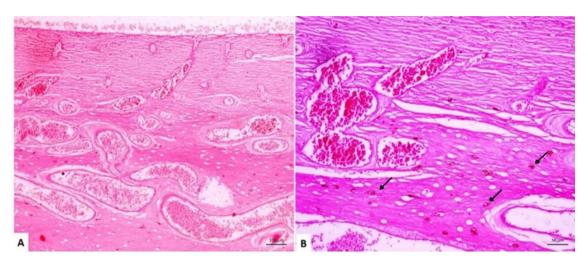


Figura 11 - A e B. Fotomicrografias da coroide. Em ambas as imagens, vasos dilatados preenchidos por hemácias. Em **B.** há numerosos melanócitos (setas pretas) no tecido conjuntivo, HE, 10x e 20x, respectivamente.

5.2.9 Cartilagem escleral

Apresenta-se muito espessa em região caudal do bulbo do olho, com aspecto hiperecogênico e grosseiro, que fica hipoanecogênico, e se torna mais delgada em direção à região anterior do olho. Quando o transdutor é posicionado no fundo do olho, sobre a cartilagem escleral, identifica-se a passagem do nervo óptico, porém o som não atravessa a cartilagem para formar a imagem interna com boa resolução para avaliação.

Histologicamente, a conjuntiva bulbar é formada por quatro a cinco camadas de células epiteliais, sendo caracterizada por epitélio escamoso estratificado e estroma de tecido conjuntivo frouxo, espesso e bastante vascularizado, contendo vasos sanguíneos mecanorreceptores, aderidos à esclera.

Também foi observado que a esclera é formada por feixes multidirecionais de tecido conjuntivo denso, colagenoso e algumas fibras de musculatura lisa, evidenciadas na histoquímica com coloração Tricrômico de Masson (TM). Também foram observados vasos sanguíneos e melanócitos, distribuídos de forma aleatória (Figura 12).

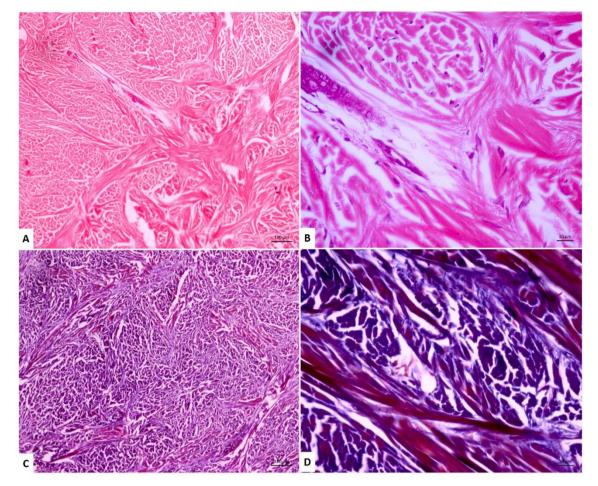


Figura 12 - A - C. Fotomicrografias da cartilagem escleral. C e D. Histoquímica de TM, notar feixes multidirecionais marcados em vermelho compatíveis com músculo liso. HE, 10x e 20x.

5.2.10 Nervo óptico

Ao exame ultrassonográfico, possui aspecto hipoecogênico e homogêneo, próximo ao centro, no fundo do olho. Histologicamente, no nervo óptico se observou a continuação da retina, da coroide e das estruturas que o formam, como a escavação da papila do nervo óptico, a lâmina crivosa da esclera, a artéria central da retina, feixes de fibras nervosas, a bainha externa do nervo óptico, a bainha interna do nervo óptico, o espaço intervaginal subaracnóideo e as artérias e nervos ciliares. A rede oftálmica forma um emaranhado de vasos arteriais e venosos que apresentam calibres diferentes e estão dispersos em tecido conjuntivo abundante.

5.3 ALTERAÇÕES

Ultrassonograficamente, foram observadas alterações na córnea de dez olhos analisados (47,6%). Essas alterações se caracterizaram por espessamentos e/ou irregularidades de superfície com a córnea, por vezes encostando na lente, e

prejudicaram a mensuração de alguns parâmetros biométricos. O descolamento de retina foi observado em 61,9% dos olhos analisados (n=13) e, nestes casos se manteve presa, em parte, ao disco óptico e foi projetada para a câmera vítrea. Também se observou a luxação da lente para a câmara vítrea em 19% dos olhos (n=4). Outras alterações observadas incluem estruturas amorfas ecogênicas ou hiperecogênicas sugestivas de hemorragia, coágulos, aglomerados de células e de fibrina, possivelmente decorrentes de traumas (n=3; 14,3%); presença de pontos dispersos (n=6; 28,6%) ou linhas ecogênicas filamentares (n=11; 52,4%) no vítreo, sugestivos de deposição de fibrina, principalmente na câmara vítrea. O aumento de ecogenicidade do nervo óptico foi encontrado em 2 olhos (n=9,5%) (Figura 13).

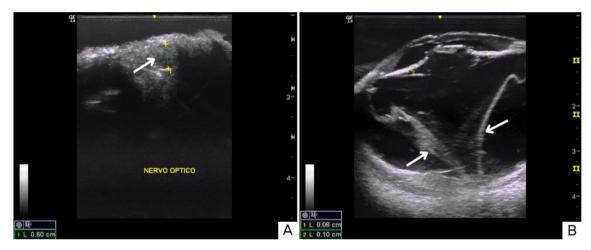


Figura 13 – Imagens ultrassonográficas de olhos de *Megaptera novaeangliae*. A: Aumento da ecogenicidade do nervo óptico (seta branca) B: Descolamento de retina (setas brancas).

Histologicamente, os olhos analisados apresentaram como principais alterações os distúrbios circulatórios e inflamatórios. Dos 13 olhos examinados, três apresentaram acantose na esclera (23%) e um apresentou degeneração hidrópica na conjuntiva bulbar (7,6%). Dois olhos apresentaram coroidite e retinite (15,3%), sendo o infiltrado inflamatório predominantemente linfoplasmocitário, associado à deposição de fibrina nas estruturas (Figura 14).

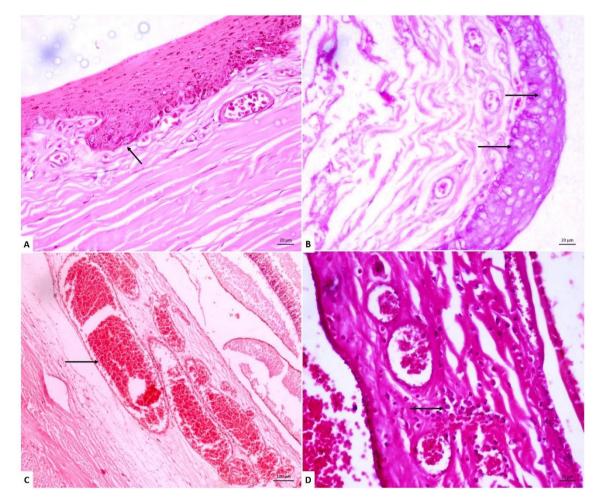


Figura 14 - Fotomicrografias de alterações microscópicas em olhos de *Megaptera novaeangliae*. **A.** Acantose em esclera (seta). **B.** Degeneração hidrópica em conjuntiva bulbar (setas). **C.** Congestão em coroide, notar vasos dilatados preenchidos por hemácias (seta). **D.** Coroidite linfoplasmocitária, notar infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (seta). HE, 10x, 20x e 40x.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo analisou as estruturas oftálmicas da baleia-jubarte macroscopicamente, com auxílio de ultrassonografia e microscopicamente, a partir de cortes histológicos. Os indivíduos analisados encalharam nos estados da Bahia e Espírito Santo, sendo na sua maioria machos e filhotes. No estudo de Groch e colaboradores (2018), observou-se o mesmo padrão de encalhes, com 79,2% dos indivíduos classificados como filhotes. Entretanto, no presente estudo, não é possível inferir uma relação entre o padrão de encalhes, e a faixa etária e o sexo dos indivíduos, uma vez que foi utilizada uma amostragem selecionada de animais que encalharam em condições de decomposição mais recente e que possuíam ao menos um dos olhos.

Bentley (2023) publicou, recentemente, um estudo sobre o uso de probes com frequências entre 20 MHz e 60 MHz, consideradas altas, que geram imagens ultrassonográficas com alta resolução, porém, com baixa penetração, limitada a um alcance de 5-10 mm. Essa profundidade de penetração é adequada para a aplicação oftálmica na veterinária, porque as estruturas importantes estão no segmento anterior do olho e na região periférica da retina, podendo ser facilmente alcançadas. Em contrapartida, Saviano (2013), evidenciou a possibilidade de realização do ultrassom de estruturas oculares com transdutores de 2 a 12 MHz. No presente estudo, foram utilizados transdutores lineares, com alcance entre 7 e 12 MHz, e convexos, com alcance de 2 a 5,5 MHz, porque os bulbos oculares das baleia-jubartes são grandes e necessitam de maior penetração para visibilizar as estruturas oftálmicas. Os transdutores utilizados, apesar de apresentarem menor resolução nas imagens, se mostraram adequados para alcançar as estruturas desse estudo.

Os achados ultrassonográficos corroboram o descrito em literatura acerca das estruturas oftálmicas dos misticetos estudados anteriormente e dos cetáceos em geral, com a esclera mais espessa; característica também presente em outros animais marinhos, como tubarões e tartarugas. Embora sua funcionalidade não tenha sido completamente elucidada, Buono e colaboradores (2012) propuseram que tal espessura pode ajudar a evitar possíveis deformações do bulbo ocular em decorrência da grande pressão durante os mergulhos. O estudo de Bjerager e colaboradores (2003) já havia levantado essa hipótese, sugerindo também que a principal função da esclera seja resistir a forças deformantes, como a ação do músculo retrator.

A espessura da córnea é maior nas extremidades e menor no centro, achado similar aos descritos para outros misticetos como a baleia-franca (*Eubalaena australis*) (BUONO et al., 2012), a baleia-cinzenta (*Eschrichtius robustus*) (MASS e SUPIN, 1997), a baleia-da-groenlândia (*Balaena mysticetus*) (ZHU et al., 2001) e para filhotes de baleia-jubarte (RODRIGUES et al., 2014). De acordo com Kröger e Kirschfeld (1992), essa conformação da córnea contribui com a refração da luz adequada, embora a refração nos olhos dos cetáceos não exerça papel tão crucial quanto para os mamíferos terrestres, devido ao índice refrativo ser similar ao da água. Para os autores, a curvatura menor da região periférica da córnea poderia contribuir para a sua atuação como uma fraca lente divergente, quando submersa.

A camada de Bowman, ausente em parte das espécies de mamíferos e presente em humanos, pinípedes e cetáceos foi visibilizada nesse estudo e pode ser considerada uma característica estrutural anatômica de cetáceos (MILLER et al., 2012). Trata-se de uma estrutura acelular de fibras de colágeno, encontrada entre a membrana epitelial basal e o estroma, na córnea (WILSON, 2020). Ela está presente em algumas espécies de mamíferos e ausente em outras. De acordo com o estudo de Encina e colaboradores (2002), quase todos os primatas estudados possuem a estrutura, com exceção dos lêmures (*Lepilemur mustelinus*), enquanto os carnívoros terrestres não apresentam. Entre os herbívoros estudados pelos autores, apenas em alguns, a estrutura está presente, como as girafas, zebus e cervos. Nos mamíferos marinhos, a camada já foi descrita em leões-marinhos-da-Califórnia (*Zalophus californianus*), embora também façam parte da ordem dos carnívoros (MILLER et al., 2010). Nesse estudo, a camada foi identificada em todos os indivíduos, assim como Buono e colaboradores (2012) identificaram nas baleias-francas-do-sul, sugerindo possível presença da estrutura nas demais espécies de misticetos.

A função da camada de Bowman ainda não está completamente elucidada, mas descarta-se função crítica, uma vez que pacientes humanos que necessitam de ceratectomia fotorrefrativa (*i.e.*, raspagem cirúrgica para a remoção da camada mais externa do tecido da córnea) podem ter a camada removida sem qualquer sequela ou perda de função da córnea (WILSON, 2023). Seiler e colaboradores (1992) sugeriram não haver contribuição importante da camada de Bowman na estabilidade mecânica da córnea humana e sua função também não aparenta ser de barreira mecânica, uma vez que há evidências de passagem de macromoléculas (TORRICELLI et al., 2015). De acordo com as informações disponíveis na literatura, ainda não é possível inferir uma

função específica da camada de Bowman nos olhos das baleias-jubarte, nem tampouco levantar hipóteses para a sua presença.

A lente da baleia-jubarte é caracterizada como estrutura biconvexa, elíptica, similar à descrita nas belugas e em alguns misticetos, , enquanto a maioria dos odontocetos e outras espécies de misticetos apresentam estrutura descrita como esférica (MASS e SUPIN, 2007). Para as baleias-jubarte, o achado é similar ao de Rodrigues e colaboradores (2014), que descreveram a lente como elipsoidal. Em adição, o formato do olho é mais achatado no segmento anterior e possui comprimento axial menor do que o seu diâmetro (MASS e SUPIN, 2007). Buono et al. (2012) utilizaram o congelamento para a conservação dos olhos estudados, porém, segundo os autores, o método não foi eficaz, provocando deformidades, encolhimento e decomposição das lentes. Na análise ultrassonográfica dos 21 olhos desse estudo, parte das lentes (n=4; 20%) foi deslocada de seu sítio habitual para o vítreo, provavelmente em decorrência de falhas na preservação do material e, quando posicionadas anatomicamente, produziram forte sombra acústica posterior, o que dificultou a análise do fundo do olho.

No estudo da córnea, foi observado que ela é preenchida por tecido homogêneo e hipoecogênico, diferente do que é comumente visibilizado em quelônios marinhos, que possuem a região internamente ecogênica, sendo hipoecogênica em relação à superfície (MURAMOTO et al., 2020). Esse fato demonstra diferenças anatômicas nos olhos, entre diferentes táxons que utilizam o ambiente marinho.

Uma estrutura intraocular foi encontrada neste estudo, com origem na região próxima ao nervo óptico, estendendo-se até a região posterior da lente e, no entanto, não foram encontradas informações referentes a ela em estudos prévios de morfologia ocular em cetáceos e artiodáctilos. Essa estrutura foi observada em treze olhos como um filamento tensionado e, em um olho (MN10, um animal filhote, fêmea, code 2) apresentou um aspecto enovelado. Apesar de ter sido encontrada na maioria dos olhos estudados, ela não estava presente em seis deles. No animal identificado como MN13 (um animal juvenil, macho, code 2), com avaliação bilateral dos olhos, a estrutura estava presente no olho direito e não foi visibilizada no olho esquerdo. Aparentemente, a ausência da estrutura não está relacionada à faixa etária, sexo ou código de decomposição, não sendo possível estabelecer relação causal para a não visibilização.

Em 2001, Supin e colaboradores descreveram que a musculatura do corpo ciliar é vestigial ou ausente na maioria dos cetáceos. Isso, associado ao formato da lente, traz pouca capacidade de acomodação e as lentes parecem se mover anterior e

posteriormente, através de mecanismos não determinados. Nesse estudo de Supin e colabadores (2001), foi possível presumir, que a contração do músculo retrobulbar retrai o bulbo posteriormente dentro da órbita e, com o aumento da pressão intraocular, a lente é projetada anteriormente; quando o músculo retrobulbar relaxa, o bulbo se move anteriormente para a sua posição anatômica, com diminuição da pressão intraocular e as lentes se deslocam posteriormente para a sua posição habitual (SUPIN et al., 2001).

A estrutura filamentar encontrada nesse estudo parece possuir a capacidade de se estender e contrair, visto que foi encontrada enovelada e esticada, fato que pode sugerir tratar-se de um tecido de sustentação da lente, que pode estar envolvido nesse mecanismo descrito por Supin e colaboradores (2001).

Embora essa estrutura não tenha sido relatada anteriormente em cetáceos, uma estrutura similar foi descrita em outros trabalhos com outras espécies, relacionada a persistência hiperplásica do vítreo primitivo (PHPV), uma anomalia congênita descrita em cachorros, humanos e ratos (COLITZ et al., 2000). O vítreo primário é parte da vasculatura embriogênica do olho e supre os nutrientes para o desenvolvimento da lente e retina, durante os primeiros estágios da gestação (BAYÓN et al., 2001) e sua persistência pode resultar em catarata, leucoria e descolamento de retina secundário (COLITZ et al., 2000).

Em humanos, a persistência hiperplásica do vítreo primitivo (PHVP) ocorre quando há uma falha na regressão normal esperada do sistema hialóide, sendo a lesão básica causada pela persistência de várias porções do vítreo primitivo e da túnica, que sofrem hiperplasia por uma intensa proliferação vascular de tecido conectivo embriogênico. Costuma ser bilateral, de etiologia desconhecida com possibilidade de herança autossômica dominante ou recessiva e se apresenta de forma anterior, posterior ou completa, sendo a forma típica a anterior, onde uma placa de tecido conectivo vascularizado está situado no vítreo, imediatamente atrás e aderido à lente (JACOB et al., 2023).

Em animais, há um relato de persistência bilateral em um indivíduo jovem de Lobo-marinho-sul-africano (*Arctocephalus pusillus pusillus*), que apresentou catarata e ruptura da cápsula posterior, resultando em invasão de tecido fibrovascular (COLITZ et al., 2014) e em um indivíduo de foca-da-Groenlândia (*Phoca groenlandica*) (ERLACHER-REID et al., 2011).

O diagnóstico por ultrassom é indicado, demonstrando um aspecto típico de um triângulo hiperecogênico, com base na face posterior do cristalino e ápice no nível da

papila óptica (JACOB et al., 2023) e um ultrassom ocular realizado em modo B (12 MHz) demonstrou uma estrutura hiperecóica em formato de cone no vítreo, sugerindo persistência da artéria hialóide inserida na face posterior da cápsula da lente em um indivíduo de foca-da-Groenlândia (*Phoca groenlandica*) (ERLACHER-REID et al., 2011).

A persistência hiperplásica do vítreo primitivo é, portanto, uma segunda hipótese para a estrutura intraocular encontrada nos olhos desse estudo, embora chame a atenção a alta prevalência de uma anomalia congênita nesse grupo de animais.

A esclera dos cetáceos é bastante espessa e, nesse estudo, foi encontrado filamentos de musculatura lisa na cartilagem escleral, evidenciadas pela coloração de TM. Nos estudos de Zhu e colaboradores (2001) com olhos de baleias-da-Groenlândia (*Balaena mysticetus*) e Buono e colaboradores (2012), com olhos de baleia-franca-austral (*Eubalaena australis*), a descrição da esclera não faz menção à presença de musculatura, enquanto, no estudo de Rodrigues e colaboradores (2014), foi descrita a presença de quatro músculo retos, dois oblíquos e um retrator. Alguns dos retos e fibras musculares oblíquas descritas são inseridas nas pálpebras e outros na esclera, o que levanta a hipótese de que a musculatura escleral é particular em baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*).

Em relação às alterações, houve predominância de descolamento de retina na imagem ultrassonográfica, não sendo possível determinar se ocorreu antes ou após o óbito, embora seja provável que tenha ocorrido *post mortem*. A pesquisa de Cartee e colaboradores (1995), com *Tursiops truncatus*, sugeriu que o processo de fixação do bulbo gera encolhimento dos tecidos, sendo possível que essa alteração encontrada no presente estudo esteja relacionada ao acondicionamento/processamento dos bulbos *post mortem*. No entanto, como o descolamento de retina foi encontrado em olhos de indivíduos que encalharam tanto vivos quanto mortos, não é possível afirmar se foi, de fato, um artefato ocorrido durante o processamento.

Histologicamente, houve predominância de alterações circulatórias e inflamatórias nos olhos estudados. Durante o encalhe de um cetáceo vivo, principalmente animais de grande porte, há severa compressão dos órgãos devido ao peso corpóreo, o que resulta em deterioração da atividade cardiovascular e comprometimento da circulação sanguínea (GERACI e LOUNSBURY, 2005). Diáz-Delgado e colaboradores (2018) descreveram um quadro denominado "Patologia do Encalhe Ativo" para cetáceos encalhados vivos nas Ilhas Canárias, com alterações

multissistêmicas decorrentes do evento do encalhe. Os autores destacaram, principalmente, as injúrias musculares análogas às miopatias de captura, descritas em mamíferos terrestres e outras lesões nos sistemas tegumentar, cardiovascular e urinário. Apesar dessas lesões terem sido relacionadas aos achados dos autores, os mecanismos patogênicos que levam esses animais encalhados ao óbito ainda não estão completamente elucidados. Todavia, podem ser elencados como principais fatores, os vasoespasmos locais ou generalizados (por catecolaminas ou mediadores neurogênicos), a vasodilatação local a generalizada (por choque ou impedimento do retorno do fluxo sanguíneo por compressão do corpo), a injúria traumática direta dos músculos e vísceras e o dano de reperfusão (COWAN e CURRY, 2008).

Nos olhos de baleias-jubarte analisados, as alterações circulatórias foram um achado comum, sendo a congestão e hemorragia em esclera, achados predominantes. Os animais MN1, MN15 e MN18 encalharam vivos e evoluíram a óbito, apresentando o mesmo padrão de lesão, com congestão em esclera, sendo possível sugerir, portanto, que os distúrbios circulatórios causados pelo encalhe teriam provocado alterações na vascularização ocular. Isso traz à tona a importância de uma avaliação clínica oftálmica em misticetos encalhados vivos antes de tentativas de reintrodução, uma vez que o processo de encalhe pode levar a lesões oftálmicas, com comprometimento visual e que podem ser incompatíveis com a soltura em ambiente natural. Sugere-se, portanto, uma avaliação oftálmica dos misticetos encalhados vivos, sempre que possível, com uma análise de integridade corneal e um exame aprofundado de fundo de olho, antes de tentativas de reintrodução.

Em relação à visão de cores para os cetáceos, é possível afirmar que os misticetos são dicromatas e não conseguem enxergar as cores e isso pode dificultar as ações de mitigação de emalhe. Martin e Crawford (2015) sugerem o uso de painéis de aviso sonoro em redes de pesca, para evitar capturas acidentais de cetáceos. Essa solução considera os odontocetos e o uso da ecolocalização, não sendo totalmente aplicável aos misticetos, que utilizem o som como forma de comunicação e atração para a cópula, mas não utilizam a ecolocalização da mesma forma que os odontocetos. Da mesma forma, mudanças de cores nas redes de pesca parecem ser igualmente ineficazes, devido à dicromacia visual desses animais. Essas particularidades trazem desafios à conservação de misticetos, no tocante às interações com artefatos pesqueiros.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da oftalmologia em animais marinhos é pouco explorado, sendo mais utilizado em odontocetos mantidos em cativeiro e em pinípedes em reabilitação, pela disponibilidade de espécimes para estudo e alta casuística de lesões oftálmicas nesses últimos.

O uso da ultrassonografia para estudos *post mortem* é pouco utilizada, porém se mostrou bastante eficaz, permitindo a adequada visibilização das estruturas oculares e, quando associada aos estudos histológicos, trouxeram contribuições no entendimento relacionado à anatomia e morfologia ocular de misticetos, já que os odontocetos dominam os estudos oftálmicos em cetáceos.

Poucas alterações foram observadas nos olhos, sendo a mais prevalente o descolamento de retina, e uma das dificuldades desse estudo foi estabelecer quais alterações ocorreram *in vivo* e quais foram *post mortem*. O estudo prévio de Cartee e colaboradores (1995) também encontrou alterações *post mortem* decorrentes do processo de acondicionamento e preservação dos bulbos, então, é possível sugerir que o descolamento de retina possa ser *post mortem*, durante o processamento das amostras ou decorrente de anomalias, pois em alguns casos de PHPV é descrito o descolamento de retina por causas congênitas ou por tração das fibras do vítreo primário, inseridas na retina (COLITZ et al., 2014).

Os misticetos, por serem grandes cetáceos, raramente são levados para centros de reabilitação e o estudo desses espécimes em vida livre é desafiador por diversos fatores, como o difícil monitoramento, a dificuldade de acesso ao animal em ambiente marinho, o tamanho do indivíduo, entre outros, sendo que o estudo em carcaças esbarra na dificuldade de se obter amostras de tecido de boa qualidade, principalmente oriundo de animais adultos.

Novos estudos com misticetos se fazem necessários para esclarecer as funções de estruturas oculares, a exemplo da estrutura em vítreo que foi encontrada nesse trabalho, cuja função real permanece sem resposta. Ademais, o conhecimento sobre a visão dos cetáceos pode gerar contribuições importantes para a mitigação do *bycatch* desses animais.

As informações obtidas também auxiliam os veterinários clínicos na compreensão de eventuais processos patológicos e lesões decorrentes do próprio encalhe que não estejam sendo priorizados durante o atendimento. O diagnóstico e o

grau de extensão das lesões oftálmicas devem ser considerados nos casos de reintrodução imediata ao ambiente marinho.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A.R.; LOO, J.; JARIS, H.; OLAVARRIA, C.; THIELE, D.; ENSOR, P.; AGUAYO, A.; ROSENBAUN, H.C. Population genetic structure among feeding aggregations of humpback whales in the Southern Ocean. **Marine Biology.** v. 116, n. 132, 2016.

AHNELT, P. K.; KOLB, H. The mammalian photoreceptor mosaic: adaptive design. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 19, p. 711–777, 2000.

BASTIDA et al. **Mamíferos Aquáticos da América do Sul e Antártica**. 1ª edição. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Vásquez Mazzini Editores, 2018. 186-191

BAYÓN, A. et al., Ocular complications of persistent hyperplastic primary vitreous in three dogs. **Veterinary ophthalmology**, 2001

BENTLEY, E.; MILLER, P.E.; DIEHL, K.A. Use of high-resolution ultrasound as a diagnostic tool in veterinary ophthalmology. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** V. 223, N. 11, 2003.

BOYE, T.K.; GARDE, E.; NIELSEN, J.; HEDEHOLM, R.; OLSEN, J.; SIMON, M. Estimating the Age of West Greenland Humpback Whales Through Aspartic Acid Racemization and Eye Lens Bomb Radiocarbon Methods. **Frontiers in Marine Scinece.** V. 6, A. 811, 2020.

BUONO, M.R., FERNANDEZ, M.S., HERRERA, Y. Morphology of the Eye of the Southern Right Whales (*Eubalaena australis*). **The Anatomical Record** 295:355-368, 2012.

BJERGAGER, P.; HEEGARD, S.; TOUGAARD, J. Anatomy of the eye of the sperm whale (*Physeter macrocephalus*). **Aquatic Mammals**. 29. 31-36, 2003

BUTOVICH, I.A., MILLAR, T.J., HAM, B.M. Understanding and analyzing meibomian lipids – a review. **Current Eye Research**, 2008; 33: 405–420.

CARTEE, R.E.; BROSEMER, K.; RIDGWAY, S.H. The Eye of the Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) Evaluated by B Mode Ultrasonography. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, Vol. 26, No. 3, pp. 414-421 Published by: American Association of Zoo Veterinarians, 1995

CLAPHAM, P. Humpback Whale. In: **Encyclopedia of Marine Mammals** (eds W. Perrin, B. Wursig, & J.G.M. Thewissen). Elsevier, 2009: 582-584

COIMBRA, J. P.; BERTELSEN, M. F.; MANGER, P. R. Retinal ganglion cell topography and spatial resolving power in the river hippopotamus (*Hippopotamus amphibius*). **Journal of Comparative Neurology**, v. 525, n. 11, p. 2499–2513, 2017.

COLITZ, C.M.H. et al., Persistent Hyperplastic Tunica Vasculosa Lentis and Persistent Hyperplastic Primary Vitreous in Transgenic Line. **Vet Pathol** 37:422–427, 2000.

COLITZ, C.M.H., RUDNICK, J-C e HEEGAARD, S. Bilateral ocular anomalies in a South African fur seal (*Arctocephalus pusillus pusillus*). **Veterinary Ophthalmology**, 2014.

COLITZ, M.H., WALSH, M.T., McCULLOUGH, S.D. Characterization of anterior segment ophthalmologic lesions identified in freeranging dolphins and those under human care. Journal of Zoo and Wildlife Medicine 2016; 47: 56–75.

COLITZ, C.M.H.; BAILEY, J.; MEJIA-FAVA, J. Cetacean and Pinniped Ophthalmology. In: GULLAND, F.M.D.; DIERAUF, L.A.; WHITMAN, K.L. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 3rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2019.

COLITZ, C.; MONTIANI-FERREIRA, F. Ophthalmology of Whippomorpha: Hippopotamuses, Whales and Dolphins. Wild and Exotic Animal Ophthalmology: Volume 2: Mammals, p. 71-98, 2022

COMMITTEE ON TAXONOMY. List of marine mammal species and subspecies. **Society for Marine Mammalogy**. www.marinemammalscience.org, 2021. [Consulta em 09/02/2022]

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

DAVIS et al. Characterization of ocular gland morphology and tear composition of pinnipeds. Veterinary Ophthalmology. V 16, N 4, 269–275, 2013.

DAWSON, W.W; BIRNDORF, L.; PEREZ, J. Gross anatomy and optics of the dolphin eye. **Cetology** 10, 1–11, 1972

DAWSON, W. W.; SCHROEDER, J.P.; SHARPE, S.N. Corneal surface properties of two marine mammal species. **Marine Mammal Science.** V 3, N2, 1987.

DAWSON, S. M. Modifying Gillnets to Reduce Entanglement of Cetaceans. **Marine Mammal Science**, V. 7, N. 3, P. 274–282, 1991

DENNISON, S.; SAVIANO, P. Diagnostic imaging. In: GULLAND, F.M.D.; DIERAUF, L.A.; WHITMAN, K.L. **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2019. p. 537-552

DÍAZ-DELGADO, J., FERNANDEZ, A., SIERRA, E., SACCHINI, S., ANDRADA, M., VELA, A.I., QUESADA-CANALES, O., PAZ, Y., ZUCCA, D., GROCH, K., ARBELO, M. Pathologic findings and causes of death of stranded cetaceans in the Canary Islands (2006-2012). **Plos One**, V. 13, N. 10, 2018

DUBIELZIG, R.R.; MILLER, S.N.; SCHOBERT, C.S.; COLITZ, C.M.H. Anatomy of the Globe of the California Sea Lion, (*Zalophus californianus*). **Investigative Ophthalmology & Visual Science.** V 51, N 6333, 2010.

ENCINA, M.D.; POTAU, J.M.; RUANO, D.; COSTA, J.; CANALS, M. A comparative study of Bowman's layer in some mammals: Relationships with other constituent corneal structures. **European journal of anatomy**, V. 6, 2002.

ENGEL, M.; MARCONDES, M. Salvas da extinção – A história do Projeto Baleia Jubarte. Bambu Editora e Artes Gráficas Ltda, 2022: 29

ENGEL, M., MARCOVALDI, E. **Brasil Mar das Baleias**. Bambu Editora e Artes Gráficas Ltda., 2012: 35-36.

ERLACHER-REIDER, A. et al., Bilateral Ocular Abnormalities in a Wild Stranded Harp Seal (*Phoca groenlandica*) Suggestive of Anterior Segment Dysgenesis and Persistent Hyperplastic Primary Vitreous. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 42(2):300-303, 2011

FASICK, J.I.; ROBINSON, P.R. Spectral-tuning mechanisms of marine mammal rhodopsins and correlations with foraging depth. **Visual** Neuroscience 17, 2000: 781–788

GERACI, J.R.; LOUNSBURY, V.J. **Marine mammals ashore:** a field guide for strandings. 2nd edition. Maryland: National Aquarium in Baltimore, 2005

GRIEBEL, U. Color Vision in Marine Mammals. In: "The Vienna School of Marine Biology: A Tribute to Jörg Ott" (Eds. Bright, M., Dworschak, P.C. & Stachowitsch, M.), Facultas Universitätsverlag, Wien 2002: 73-87.

GRIEBEL, U.; PEICHL, L. Color vision in aquatic mammals-facts and open questions. **Aquatic Mammals. 29**. 2003: 18-30

GROCH, K.R., DÍAZ-DELGADO, J., MARCONDES, M.C.C., COLOSIO, A.C., SANTOS-NETO, E.B., CARVALHO, V.L., BOOS, G.S., MEIRELLES, A.C.O., RAMOS, H.G.C., GUIMARÃES, J.P., BORGES, J.C.G., VERGARA-PARENTE, J.E., LEGER, J.A., FERNANDEZ, A., CATÃO-DIAS, J.L. Pathology and causes of death in stranded humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) from Brazil. **Plos One**, 13(5), 2018

HARVEY, R. Comparative Analysis of Cetacean Eye Morphology Using Micro-Computed Tomography. Tese (Doutorado) – Department of Biology for honors, Duke University, Durham, North Carolina, 2019.

HILDEBRANDT, T.B.; SARAGUSTY, J. Use of Ultrasonography in Wildlife Species. **Zoo and Wild Animal Medicine**, Volume 8, W.B. Saunders, 2015: 719-720

ICMBio. Livro Vermelho da Fauna Brasileira da Fauna Ameaçada de Extinção: volume 1. Brasília-DF: ICMBio MMA, 2018

IUCN. 2008 **IUCN Red List of Threatened Species**. Available in: https://www.iucnredlist.org/resources/summary-statistics. Access in: 1 Dec. 2023.

JACOB, B.M., et al. Persistência hiperplásica do vítreo primitivo: avaliação por métodos de imagem. **Radiol. Bras**, 2023

JACOBS, G. H. The distribution and nature of color vision among the mammals. **Biological Reviews**, v. 68, p. 413–471, 1993.

JEFFERSON, T.A.; WEBBER, M.A.; PITMAN, R.L. Marine Mammals of the World: A Comprehensive Guide to Their Identification. Academic Press, 2008

JEFFERSON, T.A.; WEBBER, M.A.; PITMAN, R.L. Marine Mammals of the World: A Comprehensive Guide to their Identification. 2nd edition. Elsevier, 2015.

JOHNSON, A.; SALVADOR, G.; KENNEY, J.; ROBBINS, J.; KRAUS, S.; LANDRY, S.; CLAPHAM, P. Fishing Gear Involved In Entanglements Of Right And Humpback Whales. **Marine Mammal Science**, V. 21, N. 4, P. 635–645, 2005.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Histologia Básica Texto e Atlas**. 12ª ed. Guanabara Koogan: 2013

KALLONIATIS, M.; LUU, C. Visual Acuity By Michael Kalloniatis And Charles Lu. *In*: **Webvision: The Organization of the Retina and Visual System**. Moran Eye Center, 2012. *E-book*. Disponível em: https://webvision.med.utah.edu/book/part-viii-psychophysics-of-vision/visual-acuity/. Acesso em: 20 ago. 2023

KRÖEGER, R.H.; KIRSCHFELD, K. The cornea as an optical element in the cetacean eye. In: THOMAS, J.A; KASTELEIN, R.A.; SUPIN, A.Y. **Marine mammal sensory systems**. New York: Plenun, 1992.

LACAVE, G., HUGUET, E. Ultrasonic Anatomy of the Sea Lion Eye (*Zalophus californianus* and *Otaria byronia*) and Early Detection of Cataractous Changes. **Annual Conference of the International Association for Aquatic Animal Medicine**, 2014. Disponível em: https://www.vin.com/doc/?id=6251912

LACAVE, G., HUGUET, E. Identification of degenerative opacities in the vitreous (floaters and/or vitreous detachments and/or asteroid hyalosis) by voluntary immersion

ultrasound after cataract surgery in pinnipeds – a report of several cases. **IAAAM**, 2017. Disponível em: https://www.vin.com/doc/?id=6251912

LISNEY, T.J.; COLLIN, S.P. Retinal topography in two species of baleen whale (Cetacea: Mysticeti). **Brain, behavior and evolution,** 2019.

MADSEN, C. J., & Herman, L. M. Social and ecological correlates of vision and visual appearance. In L. M. Herman (Ed.), **Cetacean behavior: Mechanisms and functions** (pp. 101–147). Hillsdale: Wiley Interscience, 1980.

MAGGS, D. J. Ocular Pharmacology and Therapeutics. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**, n.27, v. 59, p. 33-60, 2013.

MARTIN, G.R.; CRAWFORD, R. Reducing bycatch in gillnets: A sensory ecology perspective. **Global Ecology and Conservation**, V. 3, P. 28-50, 2015.

MASS, A.M.; SUPIN, A.Y. Distribution of ganglion cells in the retina of an Amazon river dolphin *Inia geoffrensis*. **Aquatic Mammals**. 15. 49-56., 1989

MASS, A.M.; SUPIN, A.Y. Best Vision Zones in the Retinae of Some Cetaceans: Sensory Abilities of Cetaceans. New York: Ed. Plenum Pres, 1990. pp 505-517

MASS, A.M., SUPIN, A.Y. Ocular anatomy, retinal ganglion cell distribution, and visual resolution in the gray whale, *Eschrichtius gibbosus*. **Aquatic Mammals** 1997, 23.1, 17–28

MASS, A., SUPIN, Y.A. Retinal topography and visual acuity in the riverine tucuxi (*Sotalia fluviatilis*). **Marine Mammal Science**, 15(2):351-365 (1999).

MASS, A.M., SUPIN, A.Y. Visual field organization and retinal resolution of the beluga, *Delphinapterus leucas* (Pallas). **Aquatic Mammals**. V 28.3, P 341-250, 2002

MASS, A., SUPIN, Y.A., Adaptive features of Aquatic mammal's eye. **The Anatomical Record** 290:701-715,2007

MASS, A.M.; SUPIN, A.Y. Vision. In: **Encyclopedia of Marine Mammals** (eds W. Perrin, B. Wursig, & J.G.M. Thewissen). Elsevier, 2009

MCGOWEN, M. R.; TSAGKOGEORGA, G.; WILLIAMSON, J.; MORIN, P. A.; ROSSITER, S. J. Positive Selection and Inactivation in the Vision and Hearing Genes of Cetaceans. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 7, p. 2069–2083, 2020.

MEREDITH, R.W.; GATESY, J.; EMERLING, C. A.; YORK, V. M.; SPRINGER, M. S. Rod Monochromacy and the Coevolution of Cetacean Retinal Opsins. **PLoS Genetics**, v. 9, n. 4, 2013

MEŸER, M.; BEST, P.; ANDERSON-READE, M.; CLIFF, G.; DUDLEY, S.; KIRKMAN, S. Trends and interventions in large whale entanglement along the South African coast. **African Journal of Marine Science**, V. 33, N. 3, P. 429–439, 2011.

MILLER, S.N.; COLITZ, C.M.H.; DUBIELZIG, R.R. Anatomy of the California sea lion globe. **Veterinary Ophthalmology**, V.13, N. S1, 2010.

MILLER, S.N.; DUBIELZIG, R.R.; COLITZ, C.M.H. Noninflammatory Lesions of the Anterior Cornea in Cetaceans. 43rd Annual Conference of the International Association for Aquatic Animal Medicine, 2012

MIRANDA, A.V. et al. **Guia de Ilustrado de Identificação de Cetáceos e Sirênios do Brasil – ICMBio/CMA** 2ª Edição - Brasília, DF: ICMBio/CMA, 2020.

MURAMOTO, C. et al. Ocular ultrasonography of sea turtles. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 2020. P-62-52

OLIVER, J. **Ophthalmology and Ultrasound**. Vet Times, 2008. Disponível em < https://www.vettimes.co.uk/>

PEICHL, L.; GUNTHER, B.; KROGER, R.H.H. For whales and seals the ocean is not blue: a visual pigment loss in marine mammals. **The European Journal of Neuroscience**. V 13, N 8, 2001.

PRICE, S. A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; GITTLEMAN, J. L. A complete phylogeny of the whales, dolphins and even-toed hoofed mammals (Cetartiodactyla). **Biological Reviews**, v. 80, n. 03, p. 445, 2005.

RIVAMONT, L. Bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) double-slit pupil asymmetries enhance vision. **Aquatic Mammals.** V 35, N 2, 2009.

ROBBINS, J.; MATTILA, D. Estimating humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) entanglement rates on the basis of scar evidence. **Report to the Northeast Fisheries** Science Center. Massachusetts, 2004.

ROBINSON, P.R.; NEWMAN, L.A. An investigation of the color vision of marine mammals. **Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)**, abstract no. 4544, 2002. Disponível em < www.arvo.org>

RODRIGUES, F.M.; SILVA, F.M.O; TROMPIERI-SILVEIRA, A.C.; VERGARA-PARENTE, J.C.; MIGLINO, M.A.; GUIMARÃES, J.P. Morphology of the eyeball from the humpback whale (*Megaptera novaeangliae*). **Microscopy Research and Technique.** V 77, P 348-355, 2014.

RODRIGUES, F.M.; SILVA, F.M.O; TROMPIERI-SILVEIRA, A.C.; VERGARA-PARENTE, J.C.; MIGLINO, M.A.; GUIMARÃES, J.P. Morphology of accessory structures of the humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) eye. **Acta Zoologica.** V 96, P 328–334, Stockholm, 2015

RODRIGUES, F.M.; DE SÁ, F.B.; LANGUIDEY, P.H.; VERGARA-PARENTE, J.E.; GUIMARÃES, J.P. Eye morphology of Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) and Clymene dolphins (*Stenella clymene*). An. **Acad. Bras. Ciênc.**, v. 94 (suppl 3), 2022.

SAVIANO, P. Handbook of Ultrasound in Dolphins: Abdomen, Thorax and Eye. Parma: P. Saviano, 2013, 188pp

SEILER, T.; MATALLANA, M.; SENDLER, S.; BENDE, T. Does Bowman's layer determine the biomechanical properties of the cornea?. **Refractive & corneal surgery**, V. 8, N. 2, P. 239–142, 1992

SIMEONE, C.A., TRAVERSI, J.P.; MEEGAN, J.M.; LEBERT, C.M.H., COLITZ, JENSEN, E.D. Clinical management of *Candida albicans* keratomycosis in a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). **Veterinary Ophthalmology**, V. 21, N. 3, P. 298-304, 2018.

SUPIN, A.Y.; POPOV, V.V.; MASS, A.M. Vision in aquatic mammals. In: **The Sensory Physiology of Aquatic Mammals**. P: 229–284. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2001.

TORRICELLI, A. A.; MARINO, G. K.; SANTHANAM, A.; WU, J.; SINGH, A.; WILSON, S. E. Epithelial basement membrane proteins perlecan and nidogen-2 are upregulated in stromal cells after epithelial injury in human corneas. **Experimental Eye Research**, V. 134, P. 33–38, 2015.

WILSON, S.E. Bowman's layer in the cornea—structure and function and regeneration. **Experimental Eye Research**, V. 195, 2020.

WILSON, S.E. The Cornea: No Difference in the Wound Healing Response to Injury Related to Whether, or Not, There's a Bowman's Layer. **Biomolecules**, V. 13, N. 771, 2023

WILLIAMS, J.; WILKIE, D.A.; GRÄNITZ, U. Ultraschalluntersuchungen in der Veterinärophthalmologie [Ultrasonography in veterinary ophthalmology]. Tierarztl Prax, V. 23, N. 2, 1995

ZERBINI, A.N.; WARD, E.J.; KINAS, P.G.; ENGEL, M.H.; ANDRIOLO, A. A Bayesian assessment of the conservation status of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) in the western south Atlantic ocean. JCRM, 2020

ZHU, Q.; HILLMAN, D.J.; HENK, W.G. Morphology of the eye and surrounding structures of the Bowhead Whale, *Balaena mysticetus*. **Marine Mammal Science.** V. 17, N. 4, Pg 729-750, 2001.