

## Características morfológicas e morfométricas de células sanguíneas do teleósteo *Prochilodus argenteus*

VIEIRA, F. O.<sup>1</sup>; MORO, L.<sup>2(\*)</sup>; PEREIRA, N. B.<sup>3</sup>; RIBEIRO, H. J.<sup>4</sup>; VASCONCELOS, A. C.<sup>5</sup>; CORRÊA JUNIOR, J. D.<sup>2</sup>; RIZZO, E.<sup>5</sup>; SATO, Y.<sup>6</sup>; CARNEIRO, R. A.<sup>6</sup>; CHIARINI-GARCIA, H.<sup>5</sup>

1- Mestrando em Biologia Celular - Departamento de Morfologia - ICB/UFMG; 2- Professor Adjunto - ICB/UFMG; Mestranda em Patologia Geral – Faculdade de Medicina/UFMG; 3- Professor Adjunto ICB/UFMG; 4- Doutorando em Biologia Celular - Departamento de Morfologia - ICB/UFMG; 5- Professor Associado ICB/UFMG; 6- Biólogo, Doutor – CODEVASF; 6- Professor Adjunto Escola de Veterinária/UFMG

Endereço para correspondência: moro@icb.ufmg.br

**Resumo:** Pouco se conhece, até o presente momento, sobre o tecido sangüíneo de peixes teleósteos. A fim de amplificar o conhecimento nessa área foi selecionado para este estudo o peixe teleósteo *Prochilodus argenteus* que é uma espécie de grande porte da bacia do rio São Francisco onde apresenta grande importância comercial. Contudo, estudos que abordem o padrão morfológico ou a classificação das células sangüíneas dessa espécie ainda não foram descritos na literatura. Para esse estudo, seis peixes foram coletados dos tanques de reprodução da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da CODEVASF. Imediatamente após a captura, coletou-se o sangue periférico para a confecção de esfregaços sangüíneos, os quais foram corados com May-Grünwald-Giemsa para avaliação morfológica e morfométrica. As células foram descritas morfolologicamente. Medidas do comprimento e largura de hemácias, trombócitos, bem como comprimento e largura nuclear das hemácias foram:  $11,3 \pm 0,6$ -;  $9,3 \pm 0,7$ -;  $5,5 \pm 0,5$ -;  $3,4 \pm 1,0$ - e  $5,5 \pm 0,5$ -  $3,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$  respectivamente. Os dados apresentados nesse trabalho permitiram descrever morfolologicamente as células sanguíneas de *P. argenteus*. As técnicas morfométricas utilizadas também se mostraram adequadas na determinação das dimensões celulares. A associação entre os métodos e dados gerados nesse trabalho e a caracterização ultraestrutural e citoquímica que estão em andamento permitirão avaliar a possibilidade de se utilizar a análise do sangue de *P. argenteus* como monitor biológico.

**Palavras-chave:** *Prochilodus argenteus*, morfometria, teleósteo, rio São Francisco, células sangüíneas.

**Introdução:** O peixe teleósteo *Prochilodus argenteus* é uma espécie de grande porte e de grande importância comercial da bacia do rio São Francisco (50% de da produção do pescado). O *P. argenteus* possui hábitos detritívoros, forma grandes cardumes e realiza migrações durante o período reprodutivo. Pesquisas demonstram que à jusante da barragem hidrelétrica de Três Marias, as condições de regime hidrológico da água ocasionam modificações hidrodinâmicas na temperatura e na oxigenação. Esses fatores atuam diretamente sobre a comunidade ictiofaunística ocasionando insucesso reprodutivo nessa espécie (SATO et al., 2005). Esse insucesso não é observado nos espécimes coletados a aproximadamente 35 km à jusante da represa, após a confluência com o rio Abaeté onde esses fatores são depurados (SATO et al., 2005). Trabalhos

recentes (SAMPAIO & LOPES, 2003) relatam influências antrópicas nos primeiros 30 km à jusante da barragem, tais como: ausência de mata ciliar, presença de população ribeirinha, além de áreas de pastagens e plantações. Adicionalmente, a cerca de 1 km da barragem, na margem direita do rio, localiza-se a Companhia Mineira de Metais que produz derivados de zinco e de ácido sulfúrico. Considerando que os peixes funcionam como ótimos modelos para a avaliação de ecossistemas poluídos, suas células sanguíneas têm sido estudadas e usadas para monitorar a qualidade da água (SOUZA & FONTANETTI, 2006). O conhecimento da composição do sangue é de fundamental importância na avaliação das condições fisiológicas do peixe, pois pode haver variações morfológicas e quantitativas dos elementos sanguíneos frente a condições endógenas e exógenas (RANZANI-PAIVA et al., 2003). Entretanto, ainda não há estudos que abordem a morfologia, a morfometria, ou mesmo a classificação das células sanguíneas do *P. argenteus*. Além disso, a literatura é carente de relatos que associem a possível interação de fatores naturais e antrópicos com o desenvolvimento de alterações morfológicas nas células sanguíneas dessa espécie. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo fazer descrever alguns aspectos morfológicos e morfométricos de células sanguíneas do *P. argenteus* que poderão auxiliar a posteriores análises de impacto ambiental através do estudo de alterações hemáticas nessa espécie.

**Materiais e Métodos:** Seis espécimes de *P. argenteus* foram coletados dos tanques de reprodução da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura da CODEVASF. Imediatamente após a captura, coletou-se o sangue periférico e procedeu-se a eutanásia dos animais via transecção cranial. Foram feitos esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro previamente limpas, os quais foram corados com May-Grünwald-Giemsa (MGG) segundo Bancroft (1996). Este material foi utilizado para a caracterização morfológica dos tipos celulares em: hemácias, leucócitos granulócitos e agranulócitos e trombócitos, considerando seus padrões de forma, tamanho e afinidade tintorial. Posteriormente foram adquiridas imagens digitais do tecido com auxílio do microscópio óptico modelo *Olympus BX 41* (objetiva de 100x e projetiva 3,3x), acoplado a uma câmara digital *Olympus Q Color*. Imagens adquiridas de 10 campos por lâmina foram submetidas às análises morfométricas utilizando-se o programa, *Image-Pro Plus Demo*. Foram mensurados os comprimentos e larguras citoplasmáticas e nucleares das hemácias e comprimento e largura citoplasmáticas dos trombócitos.

### **Resultados e Discussão:**

Houve poucas similaridades morfológicas entre as células sanguíneas de *P. argenteus* e as de mamíferos (DELLMAN & BROWN, 1982). Ainda assim, as hemácias foram os únicos tipos celulares que mantiveram as características mais comuns quando comparadas às de outros peixes teleósteos (ver GREGORY, 2001). As células observadas no sangue de *P. argenteus* apresentaram as características descritas a seguir: células blásticas médias com tamanho aproximado ao da hemácia, citoplasma abundante e ortocromático e núcleo esférico com cromatina periférica basofílica homogênea (Fig. 1A); célula similar a monócito apresentando núcleo reniforme, citoplasma basofílico com aspecto vesiculoso (Fig. 1B); leucócito apresentando núcleo claramente bilobado e citoplasma com as mesmas características da célula anterior (Fig. 1C); trombócitos alongados com citoplasma fortemente acidofílico, escasso, desprovido de grânulos, contendo núcleo basofílico com limites imprecisos

inviabilizando a mensuração nuclear (Fig. 1D); hemácia típica apresentando núcleo ovalado com grumos de cromatina basofílica distribuídos grosseiramente, citoplasma ortocromático e sem grânulos aparentes (Fig. 1E, 1F); leucócito de tamanho reduzido com núcleo circular e citoplasma escasso e basofílico (Fig. 1E); hemácia com núcleo condensado e basofílico sugestivo de apoptose e célula contendo cromatina com padrão de distribuição similar ao da hemácia e citoplasma ortocromático com periferia basofílica.

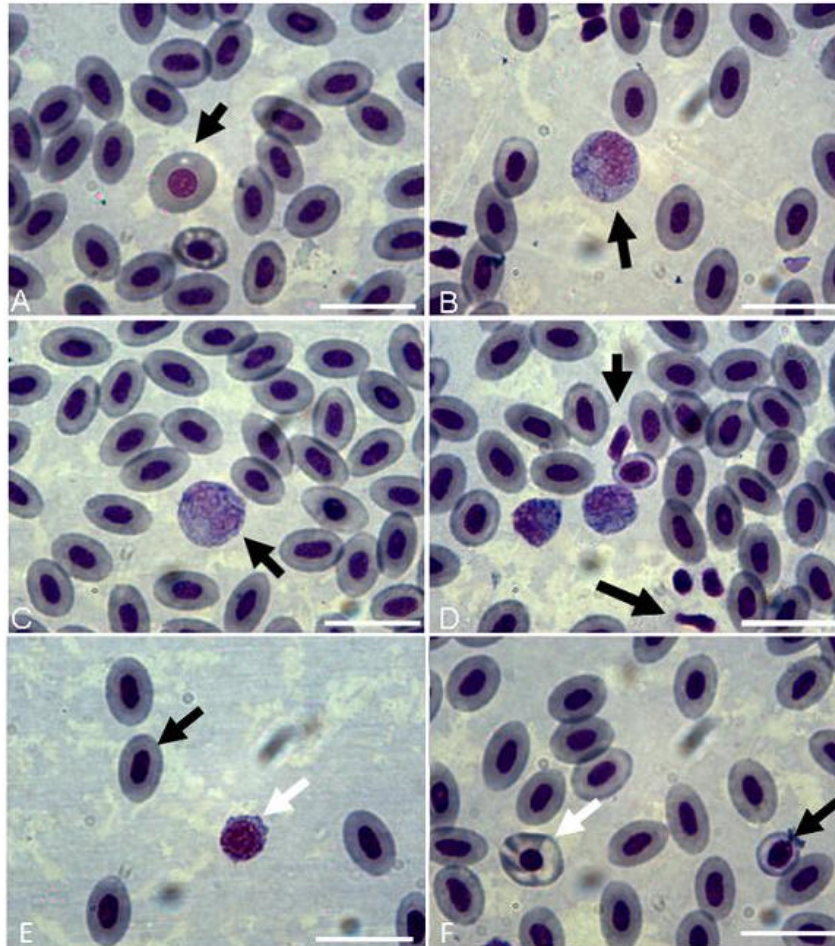


Figura 1: Micrografia de luz de esfregaço sanguíneo de *Prochilodus argenteus*. (A) Presença provável célula blástica (seta preta) caracterizada por núcleo esférico, cromatina frouxa e citoplasma abundante e ortocromático. (B) Notar leucócito arredondado com núcleo reniforme, citoplasma basofílico e vesiculoso (seta preta). (C) A seta indica leucócito com característico núcleo bilobado segmentado. (D) As setas indicam trombócitos alongados sem distinção entre núcleo e citoplasma. (E) Hemácia normal (seta preta) e leucócito com citoplasma basofílico escasso (seta branca). (F) Observar hemácia com núcleo condensado (seta branca) e células pequenas com núcleo elíptico, citoplasma ortocromático perifericamente basofílico (seta preta). (coloração: May-Grünwald-Giemsa; barra: 2,6  $\mu$ m). Os resultados morfométricos para as hemácias e trombócitos estão na tabela 1. As hemácias apresentam comprimento e largura superiores aos observados para mamíferos, porém dentro do intervalo esperado para teleosteos (ELLIS, 1976; DELLMAN & BROWN, 1982; LIESCHKE et al., 2001; ADEYEMO et al., 2002). Já os trombócitos também apresentaram núcleo e formato elíptico,

entretanto a variação observada para a largura (próxima a 30%) demonstra maior variação individual quanto ao seu padrão morfológico.

Tabela 1 – Morfometria de hemácias e trombócitos de *P. argenteus*

Células analisadas		Citoplasma		Núcleo	
Tipos	Número total	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Comprimento (µm)	Largura (µm)
Hemácias	200	11,3 ± 0,6	9,3 ± 0,77	5,05 ± 0,5	3,15 ± 0,34
Trombócitos	20	5,5 ± 0,58	3,4 ± 1,0	Nm	nm

nm - não mensurado.

Na literatura a avaliação do esfregaço sangüíneo representa uma importante ferramenta bioindicadora da qualidade da água, constituindo uma forma menos invasiva de se estudar a higidez dos peixes. A ocorrência de hemácias apoptóticas, também observada neste trabalho, tem sido utilizada para determinação da qualidade da água de ambientes naturais (SOUZA & FONTANETTI, 2006). água, constituindo uma forma menos invasiva de se estudar a higidez dos peixes. Os dados apresentados neste trabalho demonstram ser necessário a caracterização dos tipos celulares de *P. argenteus* E morfometria e uma técnica adequada à determinação de valores discrepantes entre indivíduos. **Conclusão:** Os dados apresentados nesse trabalho permitiram descrever morfológicamente as células sanguíneas de *P. argenteus*. As técnicas morfométricas utilizadas também se mostraram adequadas na determinação das dimensões celulares. A associação entre os métodos e dados gerados nesse trabalho e a caracterização ultraestrutural e citoquímica que estão em andamento permitirão avaliar a possibilidade de se utilizar a análise do sangue de *P. argenteus* como monitor biológico.

#### Referências Bibliográficas:

ADEYEMO, O.K., AGBEDE, S.A., MAGAJI, A.A. Clearance of colloidal carbon from the blood of tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Vet. archiv*, 72, 109-118, 2002.  
DELLMAN H-D & Brown E.M.; *Histologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan: 397p. 1982.

BANCROFT, J. D; TURNER, D.R. *Theory and practice of histological techniques*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone. 315 p..1996.

SOUZA, T. S.; FONTANETTI, C. S. Micronucleus test and observation of nuclear alterations in erythrocytes of Nile tilapia exposed to waters affected by refinery effluent. *Mut. Res.*, v. 605, p. 87-93, 2006.

GREGORY T. R. the bigger the C-Value, the Larger the Cell : Genome size and Red blood cell size in vertebrates. *Blood cells, Molecules, and Diseases*, v. 27, p. 830-843, 2001.

LIESCHKE, G. J., OATES, A. C., CROWHURST, M. O., WARD, A. C., LAYTON, J. E. Morphologic and functional characterization of granulocytes and macrophages in embryonic and adult zebrafish. *Blood*, v. 98, p. 3087-3096, 2001.

RANZANI-PAIVA M. J., RODRIGUES E. L., VEIGA M. L., EIRAS A. C., CAMPOS B. E. Differential leukocyte counts in "dourado", *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, from the Mogi-Guaçu River, Pirassununga, SP. *Braz J Biol.*, v. 63, p. 517-25, 2003.

SATO, Y.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.; BOSCHI, M.B. & MIRANDA, M. O. T. Influence of the Abaeté River on the reproductive success of the neotropical migratory teleost *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River, downstream from the Três Marias Dam, southeastern Brazil. *River Res. Applic.*, v. 21, p. 939-950, 2005.

SAMPAIO, E. V. & C. M. LÓPEZ. Limnologias física, química e biológica da represa de Três Marias e do São Francisco, p. 71-92. In: H. P. Godinho & A. L. Godinho (org.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 468p. 2003.