

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v12n9a167.1-6>

Estudo morfológico de células sanguíneas de *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1817)

Claudia Antônia Campos Rodrigues de Oliveira¹ , Flávia Cristina Matos Oliveira² , Paulo Sérgio dos Santos Souto^{3*} 

¹Universidade Federal Rural da Amazônia, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501 Bairro: Terra Firme, 66.077-830, Belém do Pará, Brasil.

²Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto da Saúde e Produção Animal-ISPA. Belém-PA Brasil.

³Professor da Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Saúde e Produção Animal-ISPA. Belém-PA Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: soutopss@gmail.com

RESUMO. O estudo morfológico de células sanguíneas é considerado como a base para diversas pesquisas, uma vez que a forma da célula, disposição do seu núcleo e o nível de condensação da cromatina são de fácil observação, além de detectar patologias que causam anormalidades no sangue. Assim, este estudo teve o objetivo de avaliar a morfologia das células sanguíneas encontradas na contagem qualitativa da espécie *Piaractus brachypomus*. Foram analisadas células de 43 peixes com peso médio de 1,34 Kg e comprimento total 39,23 cm, num total de 43000 células observadas. Assim, foi possível verificar a ocorrência de eritrócitos, trombócitos, e seis tipos de leucócitos: basófilo, eosinófilo, neutrófilo, heterófilo e monócito. Além disso, observou-se a presença de neutrófilos tóxicos, além de uma pequena quantidade de alterações morfológicas no núcleo das células como micronúcleos e invaginações. Durante o experimento, não houve morte de animais. No geral, as células sanguíneas de *P. brachypomus* apresentaram semelhanças morfológicas, quando comparada com a morfologia das células de peixes ósseos.

Palavras chave: células sanguíneas, estudo morfológico, *Piaractus brachypomus*

Morphological study of blood cells of *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1817)

ABSTRACT. The morphological study of blood cells is considered as the basis of several studies, since the shape of the cell, its nucleus arrangement and the level of chromatin condensation are easy to note, as well as detecting pathologies that cause blood abnormalities. The aim of this study was to evaluate the morphology of blood cells found in the qualitative count of the species *Piaractus brachypomus*. There were analysed cells from 43 fishes, with an average weight of 1.34 Kg and a mean length of 39.23 cm, in a total of 43000 cells were observed, thus it was possible to verify the occurrence of erythrocyte, thrombocytes and six types of leukocytes: lymphocytes, basophils, eosinophils, neutrophils, heterophiles and monocytes. In addition, it was noticed toxic neutrophils and a small number of morphological nuclear changes such as micronuclei and invaginations. In general the blood cells of *P. brachypomus* presented morphological similarities when compared to the morphology of the bone fish cells.

Keywords: blood cells, morphological studies, *Piaractus brachypomus*

Estudio morfológico de las células sanguíneas de *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1817)

RESUMEN. El estudio morfológico de células sanguíneas se considera como la base para diversas investigaciones, ya que la forma de la célula, disposición de su núcleo y el nivel

de condensación de la cromatina son de fácil observación, además de detectar patologías que causan anormalidades en la sangre. Así, este estudio tuvo el objetivo de evaluar la morfología de las células sanguíneas encontradas en el conteo cualitativo de la especie *Piaractus brachypomus*. Se analizaron células de 43 peces con un peso medio de 1,34 Kg y longitud total de 39,23 cm, en un total de 43000 células. Así, fue posible verificar la forma de eritrocitos, trombócitos, y seis tipos de leucocitos: basófilo, eosinófilo, neutrófilo, heterófilo y monocito. Conjuntamente, se observó la presencia de neutrófilos tóxicos, además de una pequeña cantidad de alteraciones morfológicas en el núcleo de las células como micronúcleos e invaginaciones. En general, las células sanguíneas de *P. brachypomus* presentaron semejanzas morfológicas, en comparación con la morfología de las células de los peces óseos.

Palavras chave: células sanguíneas, estudo morfológico, *Piaractus brachypomus*

Introdução

A espécie *Piaractus brachypomus* está entre os grandes peixes da ordem Characiformes, apresentando grande importância econômica para a região Norte, por destacar-se como o terceiro maior peixe de escamas da Amazônia, perdendo apenas para o pirarucu e o tambaqui, podendo atingir até 80 cm e peso superior a 20 kg em ambiente natural ([Ribeiro et al., 2016](#)). É a única espécie do gênero *Piaractus* encontrada na Bacia Amazônica ([Sobrinho et al., 1984](#)). Essa espécie possui crescimento rápido, rusticidade e resistência ao manuseio, elevadas temperaturas, enfermidades e baixos níveis de oxigênio dissolvido ([Chagas et al., 2005](#)).

No Brasil, *P. brachypomus* é cultivada na região Amazônica, nos estados do Amazonas, Rondônia, Acre, Pará, Amapá e também no Rio de Janeiro ([Taphorn, 1992](#)). Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (2012), a produção nacional da Pirapitinga no Brasil passou de 330 toneladas no ano de 2007 para 9.858,7 toneladas em 2011. Para [Lizarazo \(2013\)](#), em países como Peru, Bolívia, Equador, Venezuela e Colômbia, *P. brachypomus* foi à espécie nativa pioneira na aquicultura, sendo considerada a espécie mais cultivada nesses países.

Para [Ranzani-Paiva et al. \(2013\)](#), com a intensificação da piscicultura se tornam mais frequentes os problemas de ordem sanitária, o que faz necessário realizar o monitoramento periódico das condições de higiene dos peixes em ambiente de cultivo. [Yoshioka \(2014\)](#) indica que na região Norte tem sido realizado poucos estudos que visam avaliar indicadores de saúde de peixes redondos, como o tambaqui e a pirapitinga, o que pode dificultar a produção dessas espécies em cativeiro. Assim, com o intuito de contribuir e traçar um perfil das características morfológicas e hematológicas em células sanguíneas de peixes, o

presente trabalho teve como principal objetivo, realizar o estudo morfológico das células sanguíneas encontradas na contagem qualitativa de sangue periférico da espécie *Piaractus brachypomus*.

Material e Métodos

O presente trabalho foi submetido e aprovado na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), sob o protocolo 005/2017.

Foram utilizados 43 peixes cultivados em tanque rede de diâmetro 2mx2m e 1,5m de profundidade e alimentados com ração comercial, na Fazenda Escola de Castanhal pertencente à UFRA.

Os peixes foram capturados com o auxílio de canoa e puçá e colocados em baldes com água do local de origem contendo gelo por cinco minutos, com o objetivo de retardar o seu metabolismo e diminuir o estresse e assim, eliminar o máximo de interferências que pudessem alterar a morfologia das células.

Os animais foram contidos com um pano úmido, para a verificação do comprimento e peso (biometria). Para isso contou-se com o auxílio de ictiômetro e balança semi-analítica respectivamente. Após a biometria, foi realizada a coleta de sangue com seringa de 5 ml sem anticoagulante, em vasos localizados na região caudal conforme metodologia proposta por [Ueda et al. \(1997\)](#) e [Ranzani-Paiva et al. \(2013\)](#).

No momento da coleta de sangue, foram confeccionadas extensões (esfregaços) sanguíneas, utilizando apenas uma gota de sangue em lâminas limpas e previamente identificadas. Os esfregaços ficaram expostos ao ar livre até secar e fixados em etanol absoluto por 10 minutos ainda no local de coleta. Um total de 86 lâminas (duas para cada peixe) foram preparadas.

As lâminas foram coradas com panótico rápido LB, metodologia estabelecida por Romanowsky, na qual a extensão hematológica é submetida à ação de um fixador e duas soluções corantes, por meio de imersões de 5 segundos em cada, e ao final da última imersão encontra-se pronta para leitura, onde estruturas basófilas coram de azul, azurófilas (ricas em peroxidase) coram de púrpura e acidófilas de rosa.

Para a observação das características morfológicas das células, as amostras de sangue foram lidas em microscopia óptica de imersão em aumento de 1000x. A nomenclatura aplicada levou em consideração os aspectos morfológicos do núcleo e da disposição granular do citoplasma de acordo com [Tavares-Dias et al. \(2009\)](#), [Ranzani-Paiva et al. \(2013\)](#) e [Thrall \(2015\)](#). Para análise dos dados estatísticos, foi utilizada estatística descritiva. Foram analisadas 100 células por lâmina, totalizando 4.300 células.

Resultados e Discussão

Os exemplares de *Piaractus brachipomus* apresentaram peso médio de $1,34 \pm 0,32$ kg e comprimento total de $39,23 \pm 2,42$ cm. Nas extensões sanguíneas foram observados além de eritrócitos e trombócitos, seis tipos de leucócitos: linfócitos e monócitos (agranulócitos) e basófilos, eosinófilos, neutrófilos e heterófilos (granulócitos). Para [Tavares-Dias et al. \(2009\)](#) na circulação de peixes, esses são os leucócitos usualmente observados. Os eritrócitos apresentaram forma elíptica, com núcleo central acompanhando o formato da célula. O citoplasma apresentou coloração eosinofílica clara, homogêneo e sem vacúolos. A cromatina nuclear apresentou-se densamente agregada corando-se em azul-escuro ([Figura 1A](#)). Além disso, foi possível observar a ocorrência de eritrócitos imaturos ([Figura 1B](#)) uma vez que nesses indivíduos a maturação dessas células pode ocorrer na corrente sanguínea ([Thrall, 2015](#)). As características morfológicas dessas células são similares a diversas outras espécies de peixes ósseos ([Ranzani-Paiva & Silva-Solza, 2004](#); [Tavares-Dias et al., 2009](#); [Thrall, 2015](#)).

Os trombócitos apresentaram-se de forma elíptica, alguns com citoplasma alongado, fusiforme e agregado respectivamente, como mostra a ([Figura 2](#)). A coloração do citoplasma variou de incolor a azul fraco e núcleo condensado, seguindo o formato da célula.

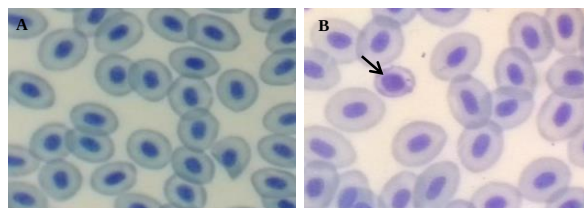


Figura 1. Eritrócitos maduros observados em esfregaço sanguíneo de *P. brachipomus* (A); Eritrócitos imaturos (B). Corante tipo Romanowsky. Aumento 1000x.

Segundo [Thrall \(2015\)](#), a variação da forma pode estar relacionada com o grau de maturação ou grau de reatividade dos trombócitos. Para esse autor, em geral essas células são arredondadas em algumas espécies, enquanto os fusiformes aparentam ser reativos e geralmente são encontrados aglomerados em extensão sanguínea.

A presença de trombócitos aglomerados nas extensões pode estar relacionada ao não uso de anticoagulante no presente trabalho, uma vez que [Weiss & Wardrop \(2010\)](#) indicam que a utilização de um anticoagulante ideal e a redução do estresse na captura, pode impedir esse tipo de aglomeração. No entanto, [Weinert \(2014\)](#), ao fazer extensões sanguíneas de *O. niloticus*, algumas contendo EDTA e outras com heparina, evidenciou a presença de trombócitos aglomerados no tratamento com os dois anticoagulantes.

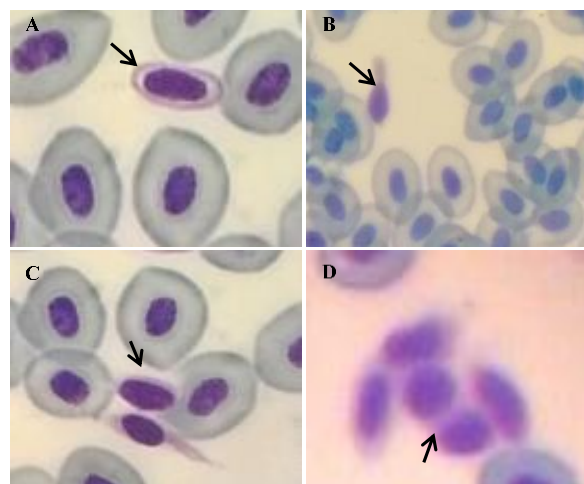


Figura 2. Trombócitos observados em *P. brachipomus*: forma elíptica (A); Trombócitos com citoplasma alongado (B); Trombócito fusiforme (C); Trombócitos agregados (D). Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

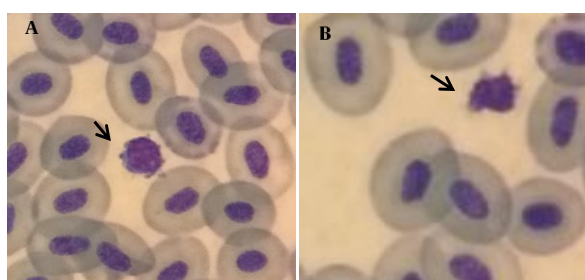
Dentre os leucócitos analisados nas extensões sanguíneas, foi possível observar que os linfócitos apresentaram maior ocorrência, com percentual de 76,58%, seguido de heterófilo, monócito, neutrófilo, basófilo e eosinófilo respectivamente como mostra a [Tabela 1](#).

Tabela 1. Percentual de leucócitos encontrados em sangue periférico em *P. brachypomus*

Leucócitos	%
Linfócitos	76,58
Heterófilos	9,24
Monócitos	5,58
Neutrófilos	4,86
Basófilos	2,18
Eosinófilos	1,57
Total	100

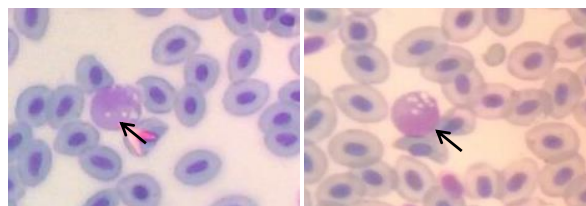
Segundo [Thrall \(2015\)](#), os linfócitos são os tipos de células brancas mais abundantes em sangue periférico de peixes, representando mais de 60% e podendo ser encontrados em até 85% em algumas espécies na contagem diferencial de leucócitos. Para [Weinert \(2014\)](#), a predominância de linfócito no sangue periférico de peixes, ainda não está bem esclarecida.

No presente trabalho, essas células apresentaram tamanho pequeno, formato arredondado ou irregular, devido à presença de projeções citoplasmáticas. Além disso, foi possível observar alta relação núcleo:citoplasma, com núcleo corado basofilicamente e isento de granulação. O citoplasma apresentou-se escasso, corando-se ligeiramente basofílico ([Figura 3](#)). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por [Weinert \(2014\)](#) em estudo com tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), [Sousa et al. \(2014\)](#), em mandi (*Pimelodus maculatus*) e [Silva \(2012\)](#) em Beijupirá (*Rachycentron canadum*).

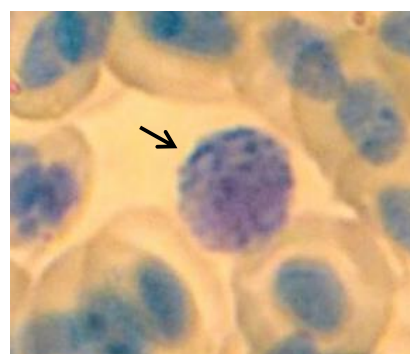
**Figura 3.** Linfócitos observados em *P. brachypomus*. Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Os monócitos apresentaram-se como células grandes, citoplasma com vacúolos e coloração basofílica, variando de azul-acinzentado a azulado abundante. O núcleo mostrou-se irregular com chanfraduras, cromatina frouxa (menos condensada) e coloração púrpura ([Figura 4](#)). Essas características são semelhantes à descrição

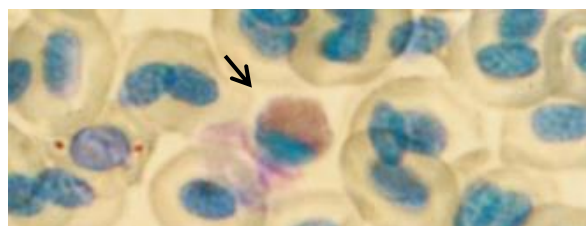
realizada por [Ranzani-Paiva et al. \(2013\)](#) para essas células.

**Figura 4.** Monócitos encontrados em extensão sanguínea de *P. brachypomus*. Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Os basófilos observados apresentaram forma arredondada, com grânulos citoplasmáticos basofílico de fácil visualização, sobrepondo-se ao núcleo ([Figura 5](#)). O núcleo apresentou-se grande, excêntrico arredondado corroborando com estudos realizados por [Ranzani-Paiva et al. \(2013\)](#) e [Thrall \(2015\)](#). Encontrar basófilo em sangue periférico de peixes ósseos é raro, tendo sido relatado apenas em algumas espécies ([Thrall, 2015](#)).

**Figura 5.** Basófilo de *P. brachypomus*. Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Os eosinófilos foram raramente encontrados nas extensões sanguíneas. Segundo [Tavares-Dias et al. \(2009\)](#) e [Thrall \(2015\)](#), esses leucócitos ocasionalmente estão presentes em sangue periférico de peixes. Quando observadas, essas células apresentaram forma arredonda, com núcleo excêntrico e cromatina condensada, com citoplasma corado eosinofílicamente devido à presença de grânulos citoplasmáticos ([Figura 6](#)).

**Figura 6.** Eosinófilo de *P. brachypomus*. Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Foram observados neutrófilos com núcleo excêntrico em formato arredondado, alongado (bastonete) e segmentado, geralmente contendo dois lóbulos conforme (Figura 7). O citoplasma apresentou-se abundante com coloração variando de incolor, azul acinzentado e acidófila (rosa-claro), e cromatina nuclear densamente agregada e grânulos citoplasmáticos pequenos com coloração variando de azul a vermelho-claro conforme estudos realizados por Thrall (2015).

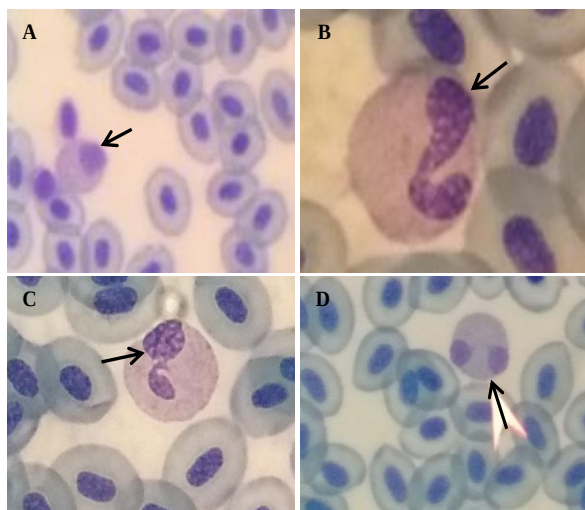


Figura 7. Neutrófilos observados em sangue periférico de *P. brachypomus* com núcleo arredondado (A); em formato de bastonete (B) e segmentados (C-D). Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Os heterófilos apresentaram formato arredondado e citoplasma ligeiramente eosinofílico, núcleo excêntrico e grânulos citoplasmáticos distintos, com leve coloração eosinofílica, quando corado com Romanowsky, conferindo padrão morfológico ligeiramente distinto de neutrófilos (Figura 8). Ranzani-Paiva et al. (2013) afirmam que no citoplasma dessas células podem ser observados pequenos vacúolos, já que estas têm como função a

fagocitose. Característica essa não observada, no presente trabalho.

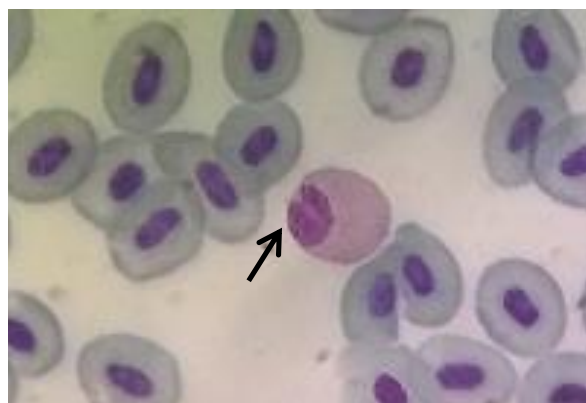


Figura 8. Heterófilo observado em sangue de *P. brachypomus*. Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Além disso, foi possível observar com frequência formas alteradas no núcleo das células, como núcleo reniforme, presença de micronúcleo e neutrófilos tóxicos (Figuras 9A-B-C) respectivamente.

Estas alterações podem estar relacionadas com fenômenos ligados a genotoxicidade. Para Brentano et al. (2013) e Rocha et al. (2016) a presença de micronúcleos tem sido utilizada na avaliação das influências antrópicas sobre os ecossistemas aquáticos, utilizando peixes como bioindicadores de qualidade ambiental.

Quanto a ocorrência de neutrófilos tóxicos, Ranzani-Paiva & Silva-Solza (2004) afirmam que isso pode estar relacionada com a liberação de neutrófilos imaturos para a circulação. Para Ranzani-Paiva et al. (2013) isso ocorre quando estas células são produzidas de forma acelerada pelos órgãos leucopoiéticos, atuando como parte da resposta inflamatória à infecção instalada.

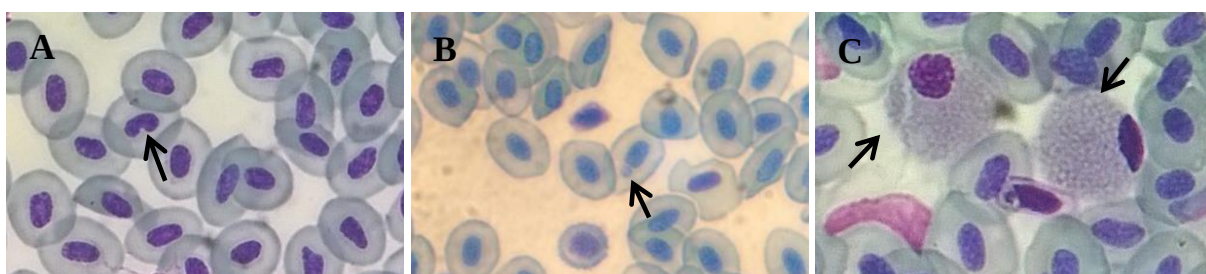


Figura 9. Alterações observadas no núcleo das células sanguíneas de *P. brachypomus*. Núcleo reniforme (A); presença de micronúcleo (B) e neutrófilos tóxicos (C). Corante tipo Romanowsky. Aumento de 1000x.

Conclusão

Em sangue periférico de *Piaractus brachypomus*, foram observados eritrócitos, trombócitos e leucócitos com características morfológicas similares a diversas outras espécies de peixes ósseos. Dentre os leucócitos, os linfócitos apresentaram maior ocorrência. Além disso, foi possível observar células com alterações morfológicas com o núcleo reniforme, presença de micronúcleo e neutrófilos tóxicos. Assim, devido à importância cada vez maior de estudos hematológicos em peixes, sugere-se a realização de mais pesquisas que possam elucidar o comportamento desse grupo taxonômico, frente a diferentes tipos de alimentação, fatores ambientais e de cultivo, além das respostas a agentes patogênicos.

Referências Bibliográficas

- Brentano, D. M., Martins, L., & Paz, A. V. 2013. Avaliação da geração de Micronúcleo em juvenis de *Centropomus parallelus* (Robalo-Peva) expostos a diferentes concentrações salinas. *Revista Técnico Científica do IFSC*, 1(2), 13-16.
- Chagas, E. C., Carvalho, G. L., Júnior, H. M., Roubach, R., & Paula Lourenço, J. N. 2005. Desempenho de tambaqui cultivado em tanques-rede, em lago de várzea, sob diferentes taxas de alimentação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(8), 833-835.
- Lizarazo, M. D. E. 2013. *Diversidade genética e padrões populacionais da Pirapitinga Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) Characiformes: Um critério para seu manejo. Master of Science, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- Ranzani-Paiva, M. J., Pádua, S. B., Tavares-Dias, M., & Egami, M. I. 2013. *Métodos para análise hematológica em peixes* (Vol. 1). Maringá, Paraná, Brasil: Eduem.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., & Silva-Solza, A. T. 2004. *Hematologia de peixes brasileiros*. São Paulo, São Paulo, Brasil: Livraria Varela.
- Ribeiro, F. M., Freitas, P. V. D. X., Santos, E. O., Sousa, R. M., Carvalho, T. A., Almeida, E. M., Costa, A. C. 2016. Alimentação e nutrição de Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e Tambaqui (*Colossoma macropomum*): Revisão. *PUBVET*, 10, 873-945.
- Rocha, C. A. M., Pessoa, C. M. F., Rodrigues, C. A. C., Pinheiro, R. H. S., Costa, E. T., Guimarães, A. C., & Burbano, R. R. 2016. Investigation into the cytotoxicity mutagenicity of the Marajó Archipelago waters using *Plagioscion squamosissimus* (Perciformes: Scianidae) as a bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132, 111-115.
- Silva, A. S. E. 2012. *Perfil hematológico do peixe Beijupirá, Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), cultivado em diferentes salinidades. Master of Science, Universidade Federal de Mossoró, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.
- Sobrinho, A. C., Silva, A. B., & Melo, F. R. 1984. Resultados de um experimento de policultivo da pirapitinga, *Colossoma brachypomum* Cuvier, 1818 com o híbrido de tilapias (*Oreochromis hornorum* Trew. x *O. niloticus* L., 1766). *Boletim Técnico do DNOCS*, 42(1), 91-115.
- Sousa, F. M. C., Conde Júnior, A. M., Barros Fernandes, H., Edlin, E. N. S., Fortes, E. A., & Fernandes, H. B. 2014. Morfologia das células sanguíneas de Mandi (*Pimelodus maculatus*, Lacépède, 1803). *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 23, 1-13.
- Taphorn, D. C. 1992. *The Characiform fishes of the Apure River drainage*. Venezuela: BioLlania, Guanare.
- Tavares-Dias, M., Oliveira-Junior, A. A., Silva, M. G., Marcon, J. L., & Barcellos, J. F. M. 2009. Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. *Veterinarski Arhiv*, 79(6), 601-610.
- Thrall, M. A. 2015. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo, Brasil: Editora Roca.
- Ueda, I. K., Egami, M. I., Sassp, W. S., & Matsumura, E. R. 1997. Estudos hematológicos em *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei)-Parte I. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 34(5), 270-275.
- Weinert, N. C. 2014. *Hematologia de tilápia do nilo (Oreochromis niloticus) submetidas a protocolos anestésicos e de anticoagulação*. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina.
- Weiss, D. J., & Wardrop, J. K. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*. Iowa, USA.
- Yoshioka, E. T. O. 2014. Cuidados essenciais no manejo alimentar de peixes redondos cultivados no Estado do Amapá. *Embrapa Amapá-Comunicado Técnico*, 1, 1-6.

Recebido: 5 Julho, 2018.

Aprovado: 27 Julho, 2018

Publicado: 2 Setembro, 2018

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.