

# Simpósio Internacional Nutrição e Saúde de Peixes



FMVZ - UNESP - Botucatu, 4 a 6 de Novembro de 2009

# Caracterização morfológica e citoquímica de trombócitos e leucócitos sanguíneos do jurupensém Sorubim lima Bloch & Schneider, 1801 (Pimelodidae)

Santiago Benites de Pádua<sup>1</sup>, Arlene Sobrinho Ventura<sup>1</sup>, Fabiana Satake<sup>2</sup>, Márcia Mayumi Ishikawa<sup>3</sup>, Marcos Tavares-Dias<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Acadêmicos de Medicina Veterinária da Faculdade Anhanguera de Dourados, Rua Manoel Santiago, 1.775, Vila São Luis, CEP 79.925.150, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: santiago psb@hotmail.com; lene\_550@hotmail.com

<sup>2</sup>Professora do Centro Universitário da Grande Dourados, Rua Balbina de Matos, 2121, Jardim Universitário, CEP 79.824-900, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: fabsatake@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Pesquisadora da Embrapa Agropecuária Oeste, Laboratório de Piscicultura, BR 163, km 253,6, Cx. Postal 661, CEP 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail: marcia@cpao.embrapa.br

<sup>1</sup>Pesquisador da Embrapa Amapá, Rodovia Juscelino Kubitschek, km 5, 2600 CEP 68903-419, Caixa Postal 10, Macapá, Amapá, Brasil. E-mail: marcostavares@cpafap.embrapa.br

Resumo: Este estudo teve por objetivo caracterizar os aspectos morfológicos e citoquímicos das células sanguíneas do jurupensém (*Sorubim lima*). Sete exemplares de jurupensém foram submetidos à venopunção caudal e confecionadas extensões sanguíneas que foram submetidas à coloração de rotina com May Grünwald-Giemsa-Wright e avaliadas quanto suas propriedades citoquímicas com Ácido Periódico de Schiff (PAS), Sudan Black B e Azul de Bromofenol. Observou-se intensa reação difusa para PAS em LG-PAS, com positividade difusa, porém de menor intensidade nos neutrófilos e positividade focal em trombócitos. Na detecção de lipídeos pelo Sudan Black B, neutrófilos e basófilos apresentaram granulação sudanofilicas, com reação intensa em eosinófilos. Proteínas identificadas pelo método do Azul de Bromofenol foram verificadas em neutrófilos, eosinófilos e basófilos; já em monócitos, linfócitos, LG-PAS e trombócitos apresentaram reação negativa.

Palavras chaves: células sanguíneas, peixe de água doce, sangue

# Morphological and cytochemical characteristics of thrombocytes and leukocytes of the Duckbill catfish Sorubim lima Bloch & Schneider, 1801 (Pimelodidae)

**Abstract:** This study aimed to characterize the morphological and cytochemical properties of blood cells of duckbill catfish (*Sorubim lima*). The blood of seven duckbill catfish were collected and blood smears were stained with May-Grünwald Giemsa-Wright and evaluated for their cytochemical properties with Periodic Acid-Schiff (PAS), Sudan Black B and Bromophenol Blue. Diffuse strong reaction were observed to PAS in GL-PAS, with positive diffuse reaction, but to a lesser extent in neutrophils and focal positivity in thrombocytes. Detection of lipids by Sudan Black B, neutrophils and basophils showed sudanophilic granulation, with an intense reaction in eosinophils. Proteins identified by the method of Bromophenol Blue were observed in neutrophils, eosinophils and basophils; but in monocytes, lymphocytes, GL-PAS and thrombocytes showed negative reaction.

Key words: blood, blood cells, freshwater fish

### Introdução

O jurupensém (*Sorubim lima*), também conhecido como bico-de-pato, é um bagre nativo dos rios da América Latina. Pertencente à família Pimelodidae, esta espécie que não alcança grande porte, no entanto, possui filé isento de espinhas e excelentes propriedades organolépticas. Além dessas características, apresenta alto valor comercial como peixe ornamental.

Seu cultivo ainda é realizado em pequena escala, especialmente pela falta de tecnologia apropriada para sua produção. Informações ictiosanitárias e parâmetros fisiológicos são escassos para esta espécie. Neste sentido, este estudo teve por objetivo caracterizar os aspectos morfológicos e as propriedades citoquímicas das células sanguíneas de jurupensém (*S. lima*).

#### Material e Métodos

Foram utilizados sete indivíduos de jurupensém com peso médio de  $176,86 \pm 87,80$  g e comprimento médio de  $29,57 \pm 6,21$  cm mantidos em condições experimentais de cultivo durante dois anos, em tanques de fibra de vidro (1000 L), abastecidos com fluxo contínuo de água originária de poço artesiano no Laboratório de Piscicultura da *Embrapa Agropecuária Oeste*, em Dourados, Mato Grosso do Sul.

Após a captura, os peixes foram contidos mecanicamente com pano umedecido e realizada a venopunção caudal, utilizando seringas descartáveis de 3 mL e agulhas hipodérmicas 25 x 7 mm, contendo EDTA (3%). De cada espécime foi coletado 0,5 mL de sangue para confecção das extensões sanguíneas que foram coradas pancromicamente com May Grünwald-Giemsa-Wright (MGGW). Extensões sanguíneas adicionais foram confeccionadas e submetidas às seguintes reações citoquímicas: coloração com Ácido Periódico de Schiff (PAS) para identificação de glicogênio, utilizando controle pela digestão com amilase salivar; coloração com Sudan Black B para identificação de lipídeos e coloração com do Azul de Bromofenol para identificação de proteínas gerais.

Os resultados obtidos foram expressos em função da intensidade das reações citoquímicas: -: reação negativa; +: reação fracamente positiva; ++: Fortemente positiva.

#### Resultados e Discussões

Nas extensões sanguíneas coradas com o corante hematológico clássico, o MGGW, foram identificados eritrócitos, trombócitos e seis variedades de leucócitos, compreendidos por: monócitos, linfócitos, neutrófilos, leucócito granular-PAS positivo (LG-PAS), eosinófilos e basófilos (Figura 1).

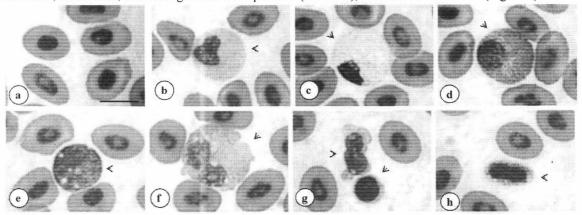


Figura 1 Células sanguíneas de jurupensém (*Sorubim lima*). Eritrócitos (a), neutrófilo (b), LG-PAS (c), eosinófilo (d), basófilo (e), monócito (f), linfócitos (g) e trombócito (h). Coloração May Grünwald-Giemsa-Wright. Barra = 5 μm.

Os resultados das colorações citoquímicas estão demonstrados na Tabela 1 e Figura 2. Observou-se intensa coloração PAS-positiva difusa nos grânulos de LG-PAS. Em grânulos de neutrófilos também houve coloração PAS-positiva, bem como no citoplasma de trombócitos (Figura 2a-c). Na detecção de lipídeos pelo método do Sudan Black B, neutrófilos e basófilos apresentaram granulações positivas, mas nos eosinófilos a reação foi mais intensa (Figura 2d-f). A identificação de proteínas gerais pelo método do Azul de Bromofenol ocorreu somente nos grânulos de neutrófilos, eosinófilos e basófilos (Figura 2g-i), pois em monócitos, linfócitos, LG-PAS e trombócitos esta reação foi negativa.

Tabela 1 Resultados das colorações citoquímicas das células sanguíneas de jurupensém S. lima.

Células	Azul de Bromofenol	Ácido Periódico de Schiff	Sudan Black B
Trombócitos	-	++	-
Monócitos	-	-	-
Linfócitos	-	-	-
Basófilos	++	-	++
Eosinófilos	+++	· ·	++
Neutrófilos	++	++	++
LG-PAS	-	+++	-

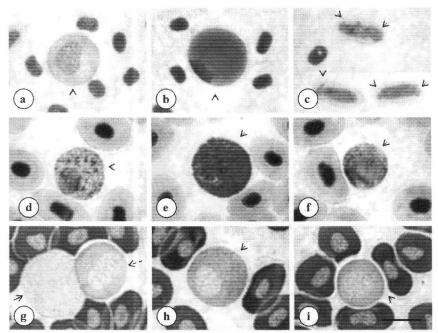


Figura 2 Propriedades citoquímicas das células sanguíneas de jurupensém *S. lima*. Coloração PAS positiva em grânulos de neutrófilo (a), LG-PAS (b) e trombócitos (c). Reação sudanofílica em neutrófilos (d), eosinófilos (e) e basófilos (f). Coloração positiva com azul de bromofenol em grânulos de neutrófilo (g – seta pontilhada) com reação negativa em LG-PAS (seta contínua), positiva para eosinófilo (h) e basófilo (i). Barra = 5 μm.

Reação PAS positiva foi também demonstrada em neutrófilos tipo I e tipo II para PAS de dourados *Salminus brasiliensis* (Veiga et al., 2000) e neutrófilos, heterófilos e trombócitos de piracanjuba, *Brycon orbgnyanus* (Tavares-Dias & Moraes, 2006). Similarmente aos que ocorreu em jurupensém *S. lima*, neutrófilos e eosinófilos de pirarucu, *Araipama gigas* (Araújo et al., 2009) e neutrófilos tipo II de *S. brasiliensis* (Veiga et al., 2000) também apresentaram sudanofilia. A coloração positiva com azul de bromofenol para identificação de proteínas gerais em eosinófilos de jurupensém, *S. lima* também foi descrita em eosinófilos de *S. brasiliensis* (Veiga et al., 2000) e em eosinófilos e neutrófilos de *A. gigas* (Araújo et al., 2009).

As proteínas básicas presentes nas granulações dos leucócitos têm função de defesa contra micro-organismos, provocando a morte destes quando são liberadas após a ruptura destas células (Araújo et al., 2009). O glicogênio é fonte energética para as células fagocíticas (Veiga et al., 2000). Sudanofilia nos granulócitos revela a presença de grande quantidade de lipídios. Em eosinófilos, esta reação pode estar relacionada, também, à presença de substâncias como a proteína básica maior ou proteína catiônica eosinofílica (Araújo et al., 2009).

## Conclusão

No jurupensém foram caracterizados citoquímica e morfologicamente quatro granulócitos, mas neutrófilos parecem ser a primeira linha de defesa, uma vez que mostrou presença de glicogênio, proteínas gerais e sudanofilia. Porém, eosinófilos podem ser, também, leucócitos com grande participação na defesa contra micro-organismos, indicado pela coloração positiva com Sudan Black B e Azul de Bromofenol.

### Literatura citada

ARAUJO, C.S.O.; TAVARES-DIAS, M.; GOMES, A.L.S. et al. Infecções parasitárias e parâmetros sanguíneos em *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) cultivados no estado do Amazonas, Brasil. In: TAVARES-DIAS, M.. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009, v.1, p.389-424.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Morphological, cytochemical, and ultrastructural study of thrombocytes and leukocytes in neotropical fish, Brycon orbignyanus Valenciannes, 1850 (Characidae, Bryconinae). **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v.38, p.209-215, 2006.

VEIGA, M.L.; EGAMI, M.I.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. et al. Aspectos morfológicos y citoquímicos de las células sanguíneas de *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Characiformes, Characidae). **Revista Chilena de Anatomia**, v.18, n.2, p. 245-250, 2000.