



# ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DAS BRÂNQUIAS E DO FÍGADO DE TRÊS ESPÉCIES DE PEIXES COLETADOS NO RIO AZAMBUJA - BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO TUBARÃO - MUNICÍPIO DE PEDRAS GRANDES - SC

Emerson Tartari

Lucélia Donatti, Flávia Sant'Anna Rios, Maria Rosa Dmengen Pedreiro, Luciano Lazzarini Wolff, Flávia Baduy Vaz da Silva, Nádia Sabchuk & Pricilla Krebsbach

Centro Politécnico, s/nSetor de Ciências Biológicas Universidade Federal do Paraná Jardim das Américas Caixa Postal 19031 CEP 81531 - 990 Curitiba - PR email: tartaripg@yahoo.com.br

## INTRODUÇÃO

A utilização de organismos bioindicadores é de suma importância na avaliação de ambientes impactados ou não. Peixes são bons bioindicadores de ecossistemas aquáticos, pois ocupam os mais diversos ambientes e participam da cadeia trófica de vários ecossistemas. A biologia celular e a histologia são ferramentas metodológicas utilizadas em estudos de biomonitoramento ambiental já que as lesões detectadas em células, tecidos ou órgãos expostos a agentes poluidores representam uma integração dos efeitos acumulativos dessas substâncias em nível fisiológico e bioquímico. Vários órgãos podem ser utilizados nas análises histopatológicas, dentre eles o fígado. É o primeiro órgão na biotransformação dos xenobióticos e provavelmente também para a excreção de metais. Assim, muitas substâncias se acumulam no fígado, de modo que as células hepáticas ficam expostas a um nível mais elevado de agentes químicos que podem estar presentes no meio ambiente ou em outros órgãos do peixe. As brânquias são uma via para a ação de xenobiontes solúveis. O epitélio branquial dos peixes é um tecido extremamente sensível, altamente dinâmico e metabolicamente ativo. Para alguns autores as brânquias atuam como órgão alvo dos peixes para os poluentes, por estarem em contato permanente com o ambiente aquático e apresentarem uma área superficial muito grande, representada pelas lamelas respiratórias. Produtos tóxicos geralmente provocam alterações no tecido branquial promovendo a perda da integridade do epitélio respiratório bem como das células pilares adjacentes provocando a diminuição das funções de troca gasosa e regulação iônica ocorridas no epitélio respiratório.

## OBJETIVOS

O Rio Azambuja é de suma importância para a região de Pedras Grandes/SC sendo utilizado como mecanismo de irrigação da agricultura, no beneficiamento de produtos oriundos das agroindústrias locais e nas opções de lazer como a pesca esportiva e as atividades recreativas. Levando-se em consideração a grande influência antrópica que o Rio Azambuja possui, este trabalho avaliou sob o aspecto histopatológico e ultraestrutural, a higidez de três espécies de peixes representativas de diferentes comunidades ictíicas existentes neste Rio, participantes das cadeias tróficas locais.

## MATERIAL E MÉTODOS

As brânquias e o fígado dos peixes caraciformes *Deuterodon* sp (n=16) e *Astyanax* sp (n=16) e perciforme *Geophagus brasiliensis* (n = 33) foram analisadas. Para microscopia de luz, as amostras de brânquias e de fígado foram fixadas em ALFAC durante 16 horas, desidratadas em séries alcoólicas crescentes, diafanizadas em xileno, impregnadas e incluídas em Paraplast Plus® Sigma e coradas com Hematoxilina e Eosina (Clark, 1981). As lâminas foram analisadas e fotografadas em Fotomicroscópio Olympus PM AD no Laboratório de Biologia Adaptativa da Universidade Federal do Paraná. As amostras que seguiram processamento de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram fixadas em Karnowski durante 3 horas, pós - fixadas em tetróxido de ósmio a 2% em tampão cacodilato 0,1M pH 7.2 durante 1 hora e contrastadas em blocos com acetato de uranila 2% durante 2 horas. A desidratação foi feita em série alcoólica crescente e acetona e a impregnação e inclusão em resina Epon - 812 (Luft, 1961). Os cortes ul-

trafinos foram contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 2% (Watson, 1958) e nitrato/acetato de chumbo (Reynolds, 1963). A observação do material foi realizada em microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1200EX II do Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná.

## RESULTADOS

Nas brânquias, em microscopia de luz, foram encontradas como alterações morfológicas o descolamento branquial (edema), a fusão de lamelas secundárias, a hiperplasia, a desestruturação lamelar e o aneurisma. *Deuterodon* sp foi a espécie que apresentou maior incidência de alterações branquiais, predominando edema (62%), fusão de lamelas (56,25) e aneurisma (31,25%). Já, *Astyanax* sp apresentou a menor incidência de alterações, isto é, edema (56,25%), fusão lamelar (18,75%) e aneurisma (6,25). Para van den Heuvel *et. al.*, (2002) os aneurismas no tecido branquial provavelmente resultam da morte das células pilares resultando na perda da integridade estrutural da lamela secundária havendo o acúmulo de células sangüíneas na região. Para Mallatt (1985), a hiperplasia, é uma adaptação celular reversível, voltando a condição normal na ausência do agente agressor. A hiperplasia pode ser um mecanismo típico de defesa que tem função de aumentar a distância de difusão poluentes - sangue, determinando prejuízo as trocas gasosas (Dutta *et al.*, 1993; Karan *et al.*, 1998). A hiperplasia pode levar a fusão de lamelas, que foi observada nas três espécies em estudo. Foi observada alterações ultraestruturais na estrutura branquial, dentre elas, a perda do contorno celular do endotélio, a heterocromatização nuclear de células sanguíneas e pilares e a ausência de organelas citoplasmáticas nas células pilares. No fígado das espécies analisadas foram observados centros de melano - macrófagos, focos de necrose, infiltração leucocitária e vacuolização. Vacuolização foi a patologia de maior incidência observada nas três espécies sendo que em *Deuterodon* sp foi encontrada em 18,75% dos espécimes capturados, em *Geophagus brasiliensis* (30,3%) e em *Astyanax* sp (43,75%). Infiltração leucocitária foi observada somente em *Deuterodon* sp (6,25%). Focos de necrose foram encontrados em *Deuterodon* sp (12,5%), *Astyanax* sp (18,75%) e *Geophagus brasiliensis* (12,12%). Em microscopia eletrônica de transmissão, no fígado de *Deuterodon* sp e de *Geophagus brasiliensis* foi observado heterocromatização nuclear, destruição e desestruturação de organelas, necroses e descaracterização do endotélio. Neste trabalho alterações hepáticas foram observadas, no entanto, em pequenas proporções, podendo alterar o equilíbrio homeostático do indivíduo mas não afetando as populações e comunidades encontradas no Rio Azambuja. Isto pode ser evidenciado

pela baixa incidência de indivíduos apresentando infiltração leucocitária e melanomacróforos, alterações envolvidas nos processos fagocitários e de defesa (Meseguer *et al.*, 1994).

## CONCLUSÃO

Avaliando, de forma comparativa, podemos inferir que as brânquias dos animais coletados no Rio Azambuja quando comparadas com o fígado dos mesmos animais sofreram maiores alterações morfológicas. Isto provavelmente deve - se ao fato de que os órgãos de peixes mais afetados pelos agentes químicos e ambientais são as brânquias e a pele, pois exibem grande superfície de contato e ambos apresentam células de muco, que possuem papel importante na resistência aos patógenos e as substâncias tóxicas. *Astyanax* sp foi a espécie que apresentou, tanto brânquias quanto fígado, maior integridade tecidual e celular quando comparada com *Deuterodon* sp e *Geophagus brasiliensis*. Isto se deve talvez, as características ecológicas do gênero *Astyanax*, dentre elas os ciclos de vida dinâmicos com elevado potencial reprodutivo e o oportunismo trófico.

## REFERÊNCIAS

- Clark, G. Staining procedures. Baltimore: Willians & Wilkins, 1981.
- Dutta, H. M.; Richmonds, C. R.; Zeno, T. Effects of Diazinon on the bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. Journal of Environmental Pathology, New York, v. 12, n. 4, p. 219 - 227, 1993..
- Karan, V.; Vitorović S.; Tutundžić, V., Poleksić, V. Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. Ecotoxicology and Environmental Safety, n. B - 40, p. 49 - 55, 1998..
- Luft, J. H. Improvements in epoxy resin embedding methods. Journal of Biophysical and Biochemical Cytology, n. 9, p. 409 - 414, 1961..
- Mallatt, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and others irritants: a statistical review. Can. J. Fish. Aquat. Sci., v. 42, p. 630 - 648, 1985..
- Meseguer, J.; López -Ruiz, A.; Esteban, M. A. Melano - macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): morphology, formation and possible function. Cell and Tissue Research, v. 277, p. 1 - 10, 1994..
- Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron - opaque stain in electron microscopy. Journal Cell Biology, n. 17, p. 208 - 212, 1963..
- Watson, M. L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. Journal of Biophysiology and Biochemistry Cytology, n. 4 (4), p. 475 - 478, 1958..