

ACUMULAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE POLIETILENO EM BRÂNQUIAS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE TAMBATINGA (*COLOSSOMA MACROPOMUM* X *PIARACTUS BRACKYPOMUS*)

*ACCUMULATION OF POLYETHYLENE MICROPARTICLES IN GILLS AND HEMATOLOGICAL CHANGES OF TAMBATINGA (*COLOSSOMA MACROPOMUM* X *PIARACTUS BRACKYPOMUS*)*

*ACUMULACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE POLIETILENO EM BRANQUIAS Y CAMBIOS HEMATOLÓGICOS DE TAMBATINGA (*COLOSSOMA MACROPOMUM* X *PIARACTUS BRACKYPOMUS*)*

Ducilene do Carmo da Silva

Mestre em Saúde Pública pelo Programa de Pós Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). E-mail: ducycarmo045@gmail.com | [Orcid.org/0000-0001-8074-7486](https://orcid.org/0000-0001-8074-7486)

Malba Geane Rosa Martins

Mestre em Saúde Pública pelo Programa de Pós Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). E-mail: malbageane@gmail.com | [Orcid.org/0000-0002-4835-3265](https://orcid.org/0000-0002-4835-3265)

Ericsson Rubens Rodrigues Ferreira

Mestre em Saúde Pública pelo Programa de Pós Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). E-mail: ericsson@uft.edu.br | [Orcid.org/0000-0003-4566-4583](https://orcid.org/0000-0003-4566-4583)

Wagner dos Santos Mariano

Professor do Departamento de Biologia. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). E-mail: wagner.mariano@ufnt.edu.br | [Orcid.org/0000-0003-0225-6889](https://orcid.org/0000-0003-0225-6889)

Sandro Estevan Moron

Professor do Departamento de Medicina. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). E-mail: sandro.moron@ufnt.edu.br | [Orcid.org/0000-0002-1359-6160](https://orcid.org/0000-0002-1359-6160)

Marcelo Gustavo Paulino

Professor do Departamento de Biologia. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). E-mail: marcelo.paulino@ufnt.edu.br | [Orcid.org/0000-0003-0464-6848](https://orcid.org/0000-0003-0464-6848)

Artigo recebido em 08/06/2023 - aprovado em 23/08/2024 - publicado em 16/12/2024

Como citar este artigo:

do Carmo da Silva, D., Rosa Martins, M. G., Rodrigues Ferreira, E. R., dos Santos Mariano, W., Estevan Moron, S., & Gustavo Paulino, M. ACUMULAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS DE POLIETILENO EM BRÂNQUIAS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS DE TAMBATINGA (*COLOSSOMA MACROPOMUM* X *PIARACTUS BRACKYPOMUS*). DESAFIOS - Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins, 11(6). https://doi.org/10.20873/2024_DEZ_17110

RESUMO

Os microplásticos são micropartículas com tamanhos inferiores a 5 mm, considerados poluentes preocupantes ao ecossistema aquático, devido sua alta biodisponibilidade. O uso de microesferas de polietileno como ingrediente abrasivo, alerta para os efeitos nocivos que podem causar aos organismos aquáticos. O objetivo foi avaliar os efeitos de microesferas de polietileno em peixes tambatinga, quanto ao potencial de acumulação no órgão branquial e alterações morfofisiológicas após exposição aguda. Os peixes foram divididos (n = 10) em um grupo controle e dois expostos (2 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹ do microplástico), por 72 horas. Após a exposição, amostras de sangue e brânquias foram coletadas para análises hematológicas, morfológicas e de acúmulo. Foi observado acúmulo de microplásticos no órgão respiratório, na frequência de 30% (MP2) e 60% (MP20) que, potencialmente, poderia prejudicar sua funcionalidade normal. Não houve alteração nos parâmetros eritrocitários. Houve um aumento de neutrófilos e leucócitos granulares PAS-positivo nos grupos tratados, sugerindo uma possível infecção branquial decorrente da abrasão do microplástico. Não houve comprometimento da morfologia do tecido branquial. Logo, sugere-se que houve um aumento na produção de células mucosas, protegendo o tecido da abrasão com o MPs. As microesferas nas concentrações testadas poderiam apresentar toxicidade para peixes no ambiente natural.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicologia, microplásticos, poluição aquática, histopatologia

ABSTRACT:

Microplastics are microparticles smaller than 5 mm, considered pollutants of concern to the aquatic ecosystem, due to their high bioavailability. The use of polyethylene microspheres as an abrasive ingredient warns of the harmful effects they can cause to aquatic organisms. The objective was to evaluate the effects of polyethylene microspheres in tambatinga fish, regarding the potential for accumulation in the gill organ and morphophysiological changes after acute exposure. The fish were divided (n = 10) into a control group and two exposed (2 mg L⁻¹ and 20 mg L⁻¹ of the microplastic) for 72 hours. After exposure, blood and gill samples were collected for hematological, morphological and accumulation analyses. Accumulation of microplastics was observed in the respiratory organ, at a frequency of 30% (PM2) and 60% (MP20), which could potentially impair its normal functionality. There was no change in erythrocyte parameters. There was an increase in neutrophils and PAS-positive granular leukocytes in the treated groups, suggesting a possible branchial infection resulting from microplastic abrasion. There was no impairment of the morphology of the branchial tissue. Therefore, it is suggested that there was an increase in the production of mucous cells, protecting the tissue from abrasion with MPs. The microspheres at the concentrations tested could be toxic to fish in the natural environment.

KEYWORDS: Ecotoxicology, microplastics, water pollution, histopathology.

RESUMEN

Los microplásticos son micropartículas menores de 5 mm, consideradas contaminantes de preocupación para el ecosistema acuático, debido a su alta biodisponibilidad. El uso de microesferas de polietileno como ingrediente abrasivo advierte de los efectos nocivos que pueden causar a los organismos acuáticos. El objetivo fue evaluar los efectos de las microesferas de polietileno en peces tambatinga, en cuanto al potencial de acumulación en el órgano branquial y los cambios morfofisiológicos después de la exposición aguda. Los peces se dividieron ($n = 10$) en un grupo control y dos expuestos (2 mg L⁻¹ y 20 mg L⁻¹ del microplástico) durante 72 horas. Después de la exposición, se recolectaron muestras de sangre y branquias para análisis hematológicos, morfológicos y de acumulación. Se observó acumulación de microplásticos en el órgano respiratorio, con una frecuencia de 30% (MP2) y 60% (MP20), lo que potencialmente podría perjudicar su normal funcionalidad. No hubo cambios en los parámetros de los eritrocitos. Hubo un aumento de neutrófilos y leucocitos granulares PAS positivos en los grupos tratados, lo que sugiere una posible infección branquial resultante de la abrasión microplástica. No hubo deterioro de la morfología del tejido branquial. Por lo tanto, se sugiere que hubo un aumento en la producción de células mucosas, protegiendo el tejido de la abrasión con MP. Las microesferas en las concentraciones probadas podrían ser tóxicas para los peces en el entorno natural.

Palabras clave: Ecotoxicología, microplásticos, la contaminación del agua, histopatología.

INTRODUÇÃO

Os microplásticos (MPs) são partículas plásticas diminutas, com tamanhos inferiores a 5 mm, consideradas atualmente um dos contaminantes emergentes mais persistentes no ambiente aquático (Olivatto *et al.*, 2018; Mendoza *et al.*, 2018). No ramo da estética, os MPs primários são amplamente utilizados em produtos de higiene pessoal, como esfoliantes, creme dental e produtos de limpeza facial (Fendall *et al.*, 2009; Cole *et al.*, 2011).

A crescente substituição de esfoliantes naturais por microesferas de polietileno tornaram-se uma ameaça aos recursos hídricos, pois quando utilizadas na lavagem, viajam pelos sistemas de esgotos, e escapam facilmente da captura das telas de tratamento preliminar nas estações de águas residuais, adentrando o meio aquático (Fendall *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2018). Uma das principais preocupações quanto aos riscos dos MPs de polietileno, é sua capacidade de adsorver altas concentrações de poluentes orgânicos persistentes (POPs), logo, quando ingeridos por peixes, tornam-se disponíveis para outros animais, inclusive para os humanos, via cadeia trófica (Grover *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2018).

Os MPs podem se acumular em diferentes tecidos através da ingestão e barreiras biológicas (Caixeta *et al.*, 2018; Silva, 2018; Huang *et al.*, 2019). A bioacumulação, processo pelo qual os seres vivos absorvem e acumulam substâncias tóxicas do meio externo, é uma das principais consequências da exposição a detritos plásticos, devido a não biodegradabilidade do polímero pelo organismo, podendo acarretar infecções e alterações fisiológicas no animal (Ding *et al.*, 2018; Anbumani *et al.*, 2018).

Nos peixes, as brânquias é um órgão multifuncional, atuando na regulação iônica, equilíbrio ácido-base e excreção de compostos nitrogenados, além de ser o principal responsável pelas trocas gasosas (O₂ e CO₂) (Paulino *et al.*, 2012). Por ser um dos primeiros órgãos a entrar em contato com os xenobióticos dispersos na água, este tecido torna-se susceptível a alterações fisiológicas, como redução da capacidade respiratória na lamela, desequilíbrio iônico e ácido-base. Logo, a histopatologia branquial reflete o tempo e a intensidade da exposição a um contaminante, bem como a capacidade do tecido de se regenerar (Mazon *et al.*, 2002; Sakuragui *et al.*, 2003). Essas alterações são consideradas biomarcadores morfológicos que podem ser usados para detectar efeitos tóxicos e respostas a poluentes.

A espécie tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brackipomus*) foi o indicador biológico para a exposição aguda aos MPs. Este peixe tem apresentado grande importância comercial, e embora seja peixe híbrido de piscicultura, sabe-se que há o risco dessa espécie alcançar os ecossistemas naturais, seja por introdução acidental (escapes das pisciculturas)

ou intencional em bacias hidrográficas (Dias *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2014) e, portanto, sofrer exposição contínua aos MPs. Além disso, muitos sistemas de cultivo podem utilizar fluxo de água de corpos d'água contaminado e não possuir métodos de filtragem.

Neste contexto, considerando o aumento substancial no uso de MPs como ingrediente abrasivo em produtos cosméticos e sua facilidade em adentrar o ambiente aquático, informações sobre o seu mecanismo de toxicidade em peixes são essenciais para o manejo e monitoramento da qualidade ambiental, tendo em vistas que tais detritos podem afetar a funcionalidade normal do órgão e gerar alterações fisiológicas aos animais expostos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de microplásticos de polietileno quanto ao potencial de acumulação e indução de alterações morfofisiológicas após exposição aguda.

METODOLOGIA

Animais

Exemplares de tambatinga (massa corporal = $14,7 \pm 1,1$ g e comprimento total = $10,0 \pm 0,2$ cm) foram adquiridos comercialmente em piscicultura localizadas em Araguaína – TO e transportados até o Laboratório de Morfofisiologia Animal Comparada (LaMAC) - Universidade Federal do Norte do Tocantins, Campus Araguaína. Os animais foram aclimatados por 30 dias em tanques de 250 L, com água em temperatura controlada em $27^{\circ}\text{C} \pm 1,0$, pH $6,5 \pm 0,5$; aeração artificial contínua, fotoperíodo natural (12:12 claro/escuro) e alimentação diária “*ad libitum*” com ração comercial uma vez ao dia.

Microplástico

Os microplásticos utilizado foram oriundos de produtos de higiene pessoal, composto de Polietileno (100%) e adquiridos comercialmente na forma de microesferas ($< 1\text{mm}$).

Delineamento experimental e coleta de amostra

Após o período de aclimação, os peixes foram divididos aleatoriamente em três grupos ($n=10$ em cada grupo) e distribuídos em aquários de 100 L. O grupo controle (GC) foi livre do contaminante, enquanto no segundo grupo (MP2) foi adicionado 2 mg L^{-1} de microesfera de polietileno. Ao terceiro grupo (MP20) foi adicionado 20 mg L^{-1} do MP.

A exposição ocorreu de modo agudo por 72h, em sistema estático, e durante o experimento, as características físicas e químicas da água foram monitoradas e semelhantes às do período de aclimação. Os animais não foram alimentados durante o período. Ao final da exposição, com o auxílio de seringas descartáveis heparinizadas, foi coletado o sangue (0,5 mL) para as variáveis

hematológicas. Os animais foram eutanasiados por anestesia (benzocaína 0,1 g L⁻¹) seguida de secção medular e punção cerebral de acordo com as diretrizes nacionais para experimentação animal. Amostras branquiais foram removidas para análises histopatológicas e para verificação do acúmulo de MPs.

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo o Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Norte do Tocantins e certificado sob o n° 23101.008929/2019-62.

Acúmulo

Tecidos branquiais foram dissolvidos em 30 mL KOH 10%, cobertos com papel alumínio e colocados em estufa a 60°C por 24 horas ou até dissolução total da matéria orgânica, seguindo a metodologia de Li *et al.* (2018). Após dissolução da amostra, foi acrescentado 20 mL de água destilada para flotação das microesferas plásticas e então filtradas em papel filtro. Cada filtro foi disposto em placas de Petri de vidro para observação em estereomicroscópio (EVEN, Brasil), com aumento de 6X. Para calcular a frequência de ocorrência em que o MP foi encontrado dentre o número total de amostras, foi adotado a metodologia de Pegado *et al.* (2018) através da seguinte fórmula: $FO\% = Nb/N \times 100$. Onde, FO% = frequência de ocorrência de MP; Nb = número de brânquias que contém MP; N = número total de brânquias examinadas por grupo.

Biomarcadores hematológicos

O hematócrito (Hct) foi determinado usando tubos capilares heparinizadas em uma centrífuga de microhematócrito. A concentração de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, e a contagem de glóbulos vermelhos (RBC) foi estimado usando uma câmera de Neubauer. O Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) foram calculados usando medições de Hct, Hb e RBC. Esfregaços sanguíneos foram corados com kit panóptico rápido. Foi realizado a contagem total e diferencial de leucócitos e trombócitos, segundo a metodologia de Sadauskas-Henrique *et al.* (2011).

Biomarcador histopatológico

Amostras de brânquias fixadas em Bouin por 48 h, foram desidratadas em etanol, diafanizadas em xilol, embebidas e inclusas em parafina histológica. Cortes de 5 µm de espessura foram confeccionados e corados com hematoxilina e eosina. As análises seguiram um método randomizado cego e as lesões foram quantificadas através da observação de 5 campos aleatórios em 5 secções histológicas (n =25) em cada animal, utilizando microscopia de luz acoplada a uma câmera no computador (aumento 400x)

A classificação individual de cada alteração histopatológica foi baseada em um escore (Sc) e um fator de importância (Fi), representando o índice de lesão individual do órgão (I_{alt}), método semiquantitativo de Paulino *et al.* (2020). O escore depende da distribuição da lesão no órgão, onde: (1) aponta lesão inexistente; (2) aponta lesão eventualmente presente; (3) aponta lesão não muito frequente; (4) aponta lesão moderadamente presente, (5) aponta lesão muito comum. O Fi indica a severidade da lesão e os efeitos na sobrevivência do animal, em que: (1) aponta lesão totalmente reversível e com pouca relevância patológica; (2) lesão reversível após a remoção do agente estressor e com moderada importância patológica; (3) lesões irreversíveis e com alta importância patológica. O índice de comprometimento do órgão (I_{org}) foi baseado na somatória dos I_{alt} ($I_{org} = \Sigma I_{alt}$), e expresso como média do grupo.

Análise estatística

Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A normalidade dos dados foi verificada através do teste D'Agostino & Pearson. As diferenças entre os grupos tratados e controle foram detectadas por análise de variância (ANOVA) One-way, seguida do pós-teste de Bonferroni ($n \geq 8$) ou seu correspondente não paramétrico Kruskal-Wallis e pós-teste Dunns. Todos os testes foram realizados utilizando o software GraphPad Prisma 5.0 e foi considerado significância estatística de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição ao microplástico não resultou na morte de nenhum dos animais tratados, indicando que são concentrações subletais. Nas análises de acúmulo, foi identificado a presença de microesferas aderidas no tecido branquial em ambos os grupos tratados. A frequência de ocorrência (FO%) no grupo MP2 foi de 30%, enquanto que em MP20, foi de 60% (Tabela 1).

Os grupos expostos as microesferas não apresentaram diferença no número de leucócitos e trombócitos totais, entretanto, a variação leucocitária na análise diferencial, demonstrou aumento (51,8%) na frequência de neutrófilos para o grupo MP20 e aumento de leucócitos granulares PAS-positivo no grupo MP2 (36,6%) e MP20 (260%) (Tabela 2).

Tabela 1 - Presença de microesferas de polietileno na estrutura branquial de peixes tambatinga expostos as concentrações de 2 mg L⁻¹ e 20 g L⁻¹ do microplástico disperso na água.

Controle	MP 2 g L ⁻¹	MP 20 g L ⁻¹
Não	Sim	Sim
Não	Sim	Sim
Não	Sim	Sim
Não	Não	Sim
Não	Não	Sim
Não	Não	Sim
Não	Não	Não
Não	Não	Não
Não	Não	Não
Não	Não	Não

N=10. (Sim) indica presença de MPs na estrutura branquial. (Não) indica ausência de MPs na brânquia dos animais analisados.

Tabela 2 - Valores médios (\pm E.P.M.) dos parâmetros hematológicos de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brackypomus*) após exposição aguda de 72 h a microesferas de polietileno.

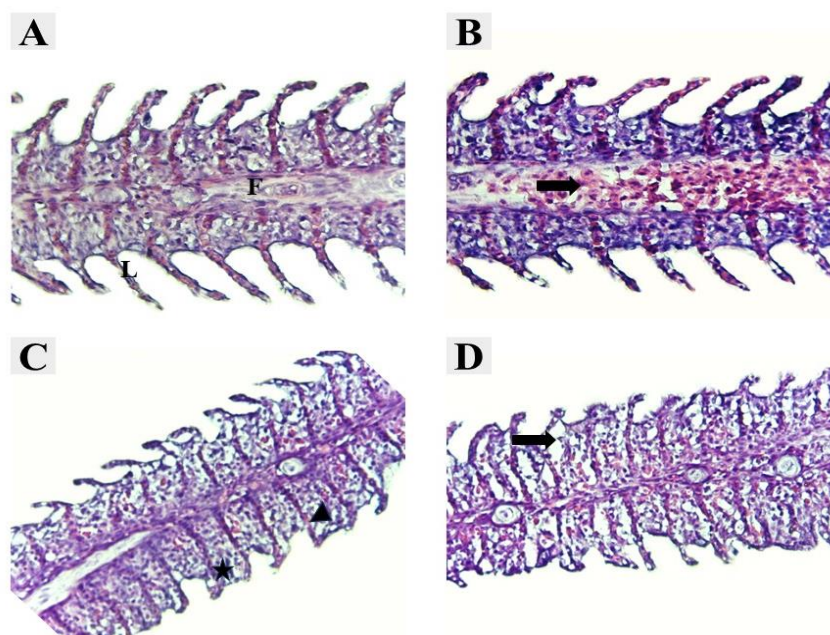
PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS			
	Controle	MP 2 g L ⁻¹	MP 20 g L ⁻¹
Parâmetros			
HCT (%)	19,9 \pm 1,4	19,5 \pm 0,9	20,4 \pm 1,7
Hb (g dL)	3,6 \pm 0,5	3,8 \pm 0,4	3,4 \pm 0,5
RBC (10 ⁴ células mm ³)	129,4 \pm 9,2	92,8 \pm 14,2	88,1 \pm 12,3
Índices			
hematimétricos			
VCM (μ m ³)	149,9 \pm 10,7	230,8 \pm 36,2	216,5 \pm 42,3
HCM (pg célula ⁻¹)	31,5 \pm 3,1	44,7 \pm 4,9	36,6 \pm 3,9
CHCM (g dL ¹)	20,6 \pm 2	20,6 \pm 2,6	19,5 \pm 4,0
Variáveis leucocitárias			
Leucócitos totais	3,9 \pm 0,5	3,2 \pm 0,6	2,1 \pm 0,2
Trombócitos totais	3,0 \pm 0,3	3,0 \pm 0,5	2,4 \pm 0,1
Linfócitos (%)	53,6 \pm 2,5	53,0 \pm 1,9	47,2 \pm 4,2
Monócitos (%)	20,0 \pm 2,3	19,1 \pm 2,1	18,0 \pm 1,4
Eosinófilos (%)	2,5 \pm 0,4	1,5 \pm 0,3	2,2 \pm 0,4
Neutrófilos (%)	18,9 \pm 1,7	25,8 \pm 2,1	28,7 \pm 3,2*
Basófilos (%)	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2
LG – PAS (%)	1,5 \pm 0,3	2,0 \pm 0,6*	5,4 \pm 1,2*

(*) Indica diferença ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle. LG-PAS = leucócitos granulares PAS-positivo.

A frequência e o tipo de patologia encontrada no tecido branquial apresentaram ser de frequência rara e exclusivamente de Fi 1 ou 2 (Figura 1), classificadas como rapidamente reversíveis, com pouca e moderada importância patológica. As alterações identificadas foram: descolamento do epitélio e edemas, hiperemia, hipertrofia do epitélio lamelar, fusão parcial de lamelas, fusão total de lamelas e hiperplasia do epitélio em todos os grupos analisados. Deste modo, baseando-se nas frequências raras, não foi observado comprometimento do órgão quando exposto as concentrações de microesferas testadas.

Quanto as alterações histopatológicas individuais, não houve diferenças no I_{alt} dos grupos analisados em relação ao controle (Tabela 3). O I_{org} demonstrou que não houve comprometimento no tecido branquial dos grupos tratados quando comparados ao controle (Figura 2).

Figura 1 – Representação histológica de lesões raramente presentes no tecido branquial de peixes tambatinga expostos por 72 h à diferentes concentrações de microesferas de polietileno.



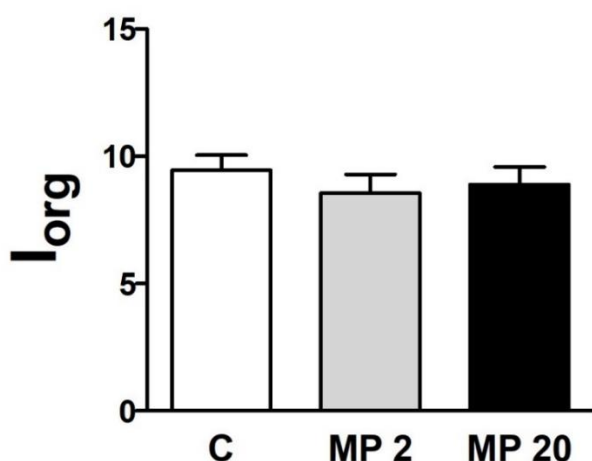
(A) Filamento branquial sem alterações histopatológicas (L = Lamela; F = Filamento). (B) Alteração circulatória do tipo hiperemia. (C) Hiperplasia do epitélio (estrela) e Fusão parcial de lamelas (cabeça de seta). (D) Descolamento do epitélio lamelar e edema (seta preta). Coloração H&E. Aumento: 400x.

Fonte: elaboração do próprio autor.

Tabela 3 – Índice de alteração individual (I_{alt}) em brânquias de peixes tambatinga expostos a diferentes concentrações de microplástico na água por 72 h.

Índice de Alteração Individual das Brânquias - I_{alt}			
Alteração	Concentração de MP (mg L^{-1})		
	0	2	20
Aneurisma	$0,3 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$
Células pilares (constricção, ruptura e dilatação)	$0,2 \pm 0,1$	0	$0,1 \pm 0,1$
Congestão, hiperemia e hemorragia	$0,3 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$
Hipertrofia do epitélio lamelar	$0,8 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2$
Descolamento epitelial e edemas	$0,5 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,2$
Fusão parcial das lamelas	$1,5 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$
Fusão total de lamelas	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$	$0,3 \pm 0,2$
Hiperplasia do epitélio	$4,8 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,5$	$4,2 \pm 0,2$

Figura 2 - Índice de lesão do órgão (I_{org}) em brânquias do híbrido tambatinga (*Colossoma macropomum* x *piaractus brackypomus*) expostos a diferentes concentrações de microesferas de polietileno por 72 h.



Fonte: elaboração do próprio autor.

As microesferas de polietileno são amplamente utilizadas na confecção de cosméticos e produtos de higiene pessoal, sendo, portanto, utilizados por empresas na produção ou de modo não seguro pela população em geral. Muitas vezes, as especificações do produto e suas implicações não são informadas pelo comerciante, assim, sugere-se que o risco possa ser maior do que o imaginado. Dentre as categorias de MP, as microesferas são uma das mais preocupantes, pois seu tamanho extremamente pequeno, as tornam altamente capazes de

interagir com organismos aquáticos, como os peixes. Anbumani *et al.* (2018), destacam que o potencial de bioacumulação dos MPs aumenta conforme a sua diminuição em tamanho, indicando risco de saúde generalizado de exposição no animal *in vivo*.

Uma vez no ambiente, as microesferas são capazes de concentrar-se no tecido animal, podendo causar injúrias, induzir altos níveis de estresse fisiológico, infecções, alterações nos processos respiratórios e osmorregulatórios (Wang *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2020; Garcia *et al.*, 2020; Mallik *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2023; Da Costa *et al.*, 2023). Neste estudo, foi possível observar acúmulo do polímero no tecido branquial, de modo concentração-dependente. Segundo Oost *et al.* (2003), um dos principais meios de acumulação ocorre por via de absorção direta da água pelas brânquias, através do processo de bioconcentração, cujos efeitos só podem ser reconhecidos a longo prazo ou se manifestam apenas em animais topo de cadeia alimentar.

A contaminação dos recursos hídricos brasileiros por MPs tem se tornado uma questão preocupante, devido os relatos de detecção de acúmulo em diferentes espécies de peixes (Pegado *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2020; Dantas *et al.*, 2020), e consequentemente, possíveis riscos na cadeia alimentar humana quanto aos efeitos da ingestão a longo prazo de peixes contaminados. De acordo com Ribeiro-Brasil *et al.* (2020), os animais com maior predominância de acúmulo de detritos plásticos são aqueles provenientes de locais fortemente urbanizados, podendo representar importantes fontes de repasse de MPs para sistemas maiores ao longo da bacia hidrográfica. Deste modo, os bioensaios laboratoriais são fundamentais para verificar as respostas biológicas dos animais frente a uma contaminação pré-estabelecida.

A acumulação de MPs nas brânquias e seus efeitos deletérios está diretamente relacionado a função desempenhada pelo órgão, uma vez que essa estrutura permanece em constante contato com a água e com os poluentes ali presentes (Pereira *et al.*, 2020; Carrola *et al.*, 2022). Alves *et al.* (2014), destacam que o tambatinga possui rastros branquiais bem desenvolvidos, característica estrutural esta, pode ter favorecido para que houvesse uma maior interatividade com os MPs dispersos na água e, consequentemente, acúmulo do contaminante tóxico no órgão respiratório. De acordo com Kim *et al.* (2021) as substâncias químicas presentes no MPs podem ser absorvidas pelas células e permanecer tóxicas nos tecidos por um período significativo de tempo.

Os parâmetros hematológicos normais apresentado no presente estudo são indicativos de que a exposição ao MP não induz diretamente quadros patológicos como anemias ou disfunção de transporte de gases. Semelhantemente a esta pesquisa, os resultados de Roda *et al.* (2020), demonstraram que a exposição ao MPs de polietileno não afetou a viabilidade celular nem os parâmetros imunológicos de curimatá (*Prochilodus lineatus*), considerando-se que a toxicidade do micropoluentes não influenciou o estado

fisiológico dos animais expostos ao MP em exposições agudas. Todavia, outros trabalhos demonstraram que a toxicidade do microplástico causa diminuição das propriedades hematológicas como HCT, RBC e HB de peixes expostos, podendo levar à quadros anêmicos (Hamed *et al.*, 2019; Vijayaraghavan *et al.*, 2022; Lee *et al.*, 2023; Raza *et al.*, 2023).

Sugere-se que o aumento na produção de neutrófilos e leucócitos granulares PAS-positivo nos grupos expostos ao MP deste estudo podem estar associados a acumulação de MP na estrutura branquial, pois o contato com a partícula abrasiva pode ter desencadeado uma inflamação tecidual. Sabendo que os neutrófilos e leucócitos granulares PAS-positivo são os primeiros leucócitos recrutados para atender a respostas inflamatórias agudas (Suzuki; Lifa, 1992; Havixbeck; Barreda, 2015), tal aumento em sua produção é justificável, considerando que uma de suas principais funções é fagocitar partículas, visando a recuperação do tecido danificado.

Os microplásticos em contato com as brânquias podem causar lesões histológicas, que podem afetar as funções vitais do órgão, como a realização das trocas gasosas (Abarghouei *et al.*, 2021). Neste trabalho, as lesões identificadas após a exposição as microesferas de polietileno, não comprometeram a funcionalidade normal do órgão branquial, todavia, diversas patologias foram frequentes. Cantanhêde *et al.* (2014) destaca que patologias como descolamento epitelial, hiperplasia e fusão de lamelas, se progredidas, são prejudiciais à passagem de água entre as lamelas, dificultando a função respiratória das brânquias. Embora as lesões encontradas neste trabalho possuíssem Fi 1 ou 2, é válido ressaltar que se expostos a longo prazo, estas alterações podem progredir para um estágio mais avançado.

Exposições a substâncias tóxicas, podem aumentar a secreção de muco no órgão respiratório dos peixes, lubrificando o tecido e protegendo contra possíveis danos na estrutura lamelar (Dezfuli *et al.*, 2010). Estudos demonstram que o aumento de muco nas brânquias de peixes, está associado a um aumento na densidade das células mucosas (Bosi *et al.*, 2005; Covello *et al.*, 2009). Deste modo, sugere-se neste estudo, que uma produção de muco possa estar mais ativa, sendo suficiente para proteger o tecido branquial contra os efeitos abrasivos do MP.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em exposição aguda, as micropartículas plásticas demonstraram potencial acumulativo no órgão branquial e induziram alterações nos parâmetros hematológicos do peixe tambatinga. As concentrações de microplásticos testadas não induziram comprometimento do tecido branquial, todavia, não se

pode desconsiderar a possibilidade de as lesões observadas serem progressistas e estarem relacionados ao tempo de exposição.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio técnico da UFNT, Msc. Liana Bezerra Dias de Lima e Msc. Gilzelle Maria da Luz Silva, pelo auxílio no delineamento experimental e processamento das amostras.

Referências Bibliográficas

ABARGHOUEI, S.; HEDAYATI, A.; RAEISI, M.; HADAVAND, B.S.; REZAEI, H.; ABED-ELMDOUST, A. Size-dependent effects of microplastic on uptake, immune system, related gene expression and histopathology of goldfish (*Carassius auratus*). **Chemosphere**, v. 276, p. 129977, 2021.

ALMEIDA, P.A.; FABRÍCIO, V. Microesferas de polietileno em esfoliantes faciais. **60/Cosmetics & Toiletries (Brasil)**. v. 30, 2018.

ALVES, A.L.; VARELA, E.S.; MORO, G.V.; KIRSCHNIK, L.N.G. Riscos Genéticos da Produção de Híbridos de Peixes Nativos. **EMBRAPA Pesca e Aquicultura**. 2014.

ANBUMANI, S.; KAKKAR, P. Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 25, p. 14373–14396, 2018.

BOSI, G.; ARRIGHI, S.; DI GIANCAMILLO, A.; DOMENEGHINI, C. Histochemistry of glycoconjugates in mucous cells of *Salmo trutta* uninfected and naturally parasitized with intestinal helminths. **Diseases of aquatic organisms**, v. 64, n. 1, p. 45-51, 2005.

BRITO, L. T. Análise de brânquias de peixes expostos às águas de ambiente lântico. Rio Claro, SP. **Monografia**. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista; 2009.

CAIXETA, D.S.; CAIXETA, F.C.; FILHO, F.C.M.M. Nano e microplásticos nos ecossistemas: impactos ambientais e efeitos sobre os organismos. **ECICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**. v.15, n.27, p.19, 2018.

CANTANHÊDE, S.M.; MEDEIROS, A.M.; FERREIRA, F.S.; FERREIRA, J.R.C.; ALVES, L.M.C.; CUTRIM, M.V.J.; SANTOS, D.M.S. Uso de biomarcador histopatológico em brânquias de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972) na avaliação da qualidade da água do Parque Ecológico Laguna da Jansen, São Luís – MA. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.66, n.2, p.593-601, 2014.

CARROLA, J.S.; RIBEIRO, O.; PINTO, M.Q. A morfologia e função da brânquia de peixes teleósteos. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 11, p. 6-6, 2022.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T.S. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. **Marine Pollution Bulletin**. v.62, ed.12, p.2588-2597, 2011.

COVELLO, J.M.; BIRD, S.; MORRISON, R.N.; BATTAGLENE, S.C.; SECOMBES, C.J.; NOWAK, B.F. Cloning and expression analysis of three striped trumpeter (*Latris lineata*) pro-inflammatory cytokines, TNF- α , IL-1 β and IL-8, in response to infection by the

ectoparasitic, *Chondracanthus goldsmidi*. **Fish & shellfish immunology**, v. 26, n. 5, p. 773-786, 2009.

DA COSTA, I.D. COSTA, L.L.; OLIVEIRA, A.S.; CARVALHO, C.E.V.; ZALMON, I. R. Microplastics in fishes in amazon riverine beaches: Influence of feeding mode and distance to urban settlements. **Science of The Total Environment**, v. 863, p. 160934, 2023.

DANTAS, N.C.F.M.; DUARTE, O.S.; FERREIRA, W.C.; AYALA, A.P.; REZENDE, C.F.; FEITOSA, C.V. Plastic intake does not depend on fish eating habits: Identification of microplastics in the stomach contents of fish on an urban beach in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 153, p. 110959, 2020.

DEZFULI, B. S.; SQUERZANTI, S.; FABBRI, S.; CASTALDELLI, G.; GIARI, L. Cellular response in semi-intensively cultured sea bream gills to *Ergasilus sieboldi* (Copepoda) with emphasis on the distribution, histochemistry and fine structure of mucous cells. **Veterinary parasitology**, v. 174, n. 3-4, p. 359-365, 2010.

DIAS, M.K.; TAVARES-DIAS, M.; MARCHIORI, N. First report of linguadactyloides brinkmanni (monogenoidea: linguadactyloidinae) on hybrids of *colossoma macropomum* x *piaractus brachypomus* (characidae) from south america. **Braz. J. Aquat. Sci. Technol.**, v. 16, n. 2, p. 61-64, 2012.

DING, J.; ZHANG, S.; RAZANAJATOVO, R.M.; ZOU, H.; ZHU, W. Accumulation, tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastic in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Environment Pollution**. v.238, p.1-9, 2018.

FENDALL, L.S.; SEWELL, M.A. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. **Marine Pollution Bulletin**. v.58, ed.8, p. 1225-1228, 2009.

GARCIA, T.D.; CARDOZO, A.L.P.; QUIRINO, B.A.; YOFUKUJI, K.Y.; GANASSIN, M.J.M.; SANTOS, N.C.L.; FUGI, R. Ingestion of microplastic by fish of different feeding habits in urbanized and non-urbanized streams in Southern Brazil. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 8, p. 434, 2020.

GROVER, A.; GUPTA, A.; CHANDRA, S.; KUMARI, A.; KRURANA, S.M.P. Polythene and environment. **International journal of environmental sciences**. v. 5, n. 6, 2015.

HAMED, M.; SOLIMAN, H.A.M.; OSMAN, A.G.M.; SAYED, A.E.H. Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers. **Chemosphere**, v. 228, p. 345-350, 2019.

HAVIXBECK, J.J.; BARREDA, D.R. Neutrophil development, migration, and function in teleost fish. **Biology**, v. 4, n. 4, p. 715-734, 2015.

HU, L.; CHERNICK, M.; LEWIS, A. M.; FERGUSON, P. L.; HINTON, D. E. Chronic microfiber exposure in adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*). **PLOS ONE**, 2020.

HUANG, J.; KOONGOLLA, J.B.; LI, H.; LIN, L.; PAN, Y.; LIU, S.; HE, W.; MAHARANA, D.; XU, X. Microplastic accumulation in fish from Zhanjiang mangrove wetland, South China. **Science of the Total Environment**. v.708, 2019.

KHAN, M. L.; HASSAN, H.U.; KAN, F.U.; GHAFAR, R.A.; RAFIQ, N.; BILAL, M.; KHOOHARO, A.R.; ULLAH, S.; JAFARI, H.; NADEEM, K.; SIDDIQUE, M.A.A.; ARAI, T. Efeitos dos microplásticos na saúde dos peixes de água doce e as implicações para a saúde humana. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e272524, 2023.

KIM, J.; YU, Y.; CHOI, J. Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v.413, p.125423, 2021.

LEE, J.; KANG, J.; KIM, J. Toxic effects of microplastic (Polyethylene) on fish: Accumulation, hematological parameters and antioxidant responses in Korean Bullhead, *Pseudobagrus fulvidraco*. **Science of The Total Environment**, v. 877, p. 162874, 2023.

LI, H.; MA, L.; LIN, L.; NI, Z.; XU, X.; SHI, H.; YAN, Y.; ZHENG, G.; RITTSCHOF, D. Microplastics in oysters *Saccostrea cucullata* along the Pearl River Estuary, China. **Environmental Pollution**. v. 236, p. 619-625, 2018.

MALLIK, A.; XAVIER, K.A.M.; NAIDU, B.C.; NAYAK, B.B. Ecotoxicological and physiological risks of microplastics on fish and their possible mitigation measures. **Science of the Total Environment**. v. 779, 2021.

MAZON, A.F.; CERQUEIRA, C.C.C.; FERNANDES, M.N. Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. **Environ. Res.** **88A**, p. 52-63, 2002.

MENDOZA, L.M.R.; KARAPANAGIOTI, H.; ÁLVAREZ, N.R. Micro (nanoplastics) in the marine environment: Current knowledge and gaps. **Current Opinion in environment Science e Health**. v.1, p.47-51, 2018.

OLIVATTO, G.P.; CARREIRA, R.; TORNISIELO, V.L.; MONTAGNER, C.C. Microplásticos: Contaminantes de Preocupação Global no Antropoceno. **Revista Virtual de Química**. Campinas – SP, 2018.

OOST, R.V.D.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. Ed.13, p. 57-149, 2003.

PAULINO, M.G.; SAKURAGUI, M.M.; FERNANDES, M.N. Effects of atrazine on the gill cells and ionic balance in a neotropical fish, *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**, v. 86, n. 1, p. 1-7, 2012.

PAULINO, M.G.; TAVARES, D.; TEREZAN, A.P.; SAKURAGUI, M.M.; PESENTI, E.; GIANI, A.; CESTARI, M.M.; FERNANDES, J.B.; FERNANDES, M.N. Biotransformations, Antioxidant System Responses, and Histopathological Indexes in the Liver of Fish Exposed to Cyanobacterial Extract. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 1041-1051, 2020.

PEGADO, T.S.S.; SCHMID, K.; WINEMILLER, K.O.; CHELAZZI, D.; CINCINELLI, A.; DEI, L.; GIARRIZZO, T. First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. **Mar. Pollut. Bull.** v.133, p. 814 – 821, 2018.

PEREIRA, N.J.; MAIÃO, J.P.L.S.; CAMPOS, J.S.P.; SILVA, N.D.; MENDES, D.C.S.; LENZ, T.M.; SANTOS, D.M.S. Biomarcadores histológicos em brânquias de peixes na avaliação da contaminação ambiental do Rio Mearim, Nordeste brasileiro. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 68063-68079, 2020.

RAZA, T.; RASOOL, B.; ASRAR, M.; MANZOOR, M.; JAVED, Z.H.; JABEEN, F.; YOUNIS, T. Exploration of polyacrylamide microplastics and evaluation of their toxicity on multiple parameters of *Oreochromis niloticus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 103518, 2023.

RIBEIRO-BRASIL, D. R.G.; TORRES, N.R.; PICANÇO, A.B.; SOUSA, D.S.; RIBEIRO, V.S.; BRASIL, L.S.; MONTAG, L.F.A. Contamination of stream fish by plastic waste in the Brazilian Amazon. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115241, 2020.

RODA, J.F.B.; LAUER, M.M.; RISSO, W.E.; MARTINEZ, C.B. Microplastics and copper effects on the neotropical teleost *Prochilodus lineatus*: Is there any interaction? **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**. n. 242, 2020.

SADAUSKAS-HENRIQUE, H.; SAKURAGUI, M.M.; PAULINO, M.G.; FERNANDES, M.N. Using condition factor and blood variable biomarkers in fish to assess water quality. **Environ Monit Assess**. v.181, p.29-42, 2011.

SAKURAGUI, M.M., SANCHES, J.R., FERNANDES, M.N. Gill chloride cell proliferation and respiratory responses to hypoxia of the neotropical erythrinid fish *Hoplias malabaricus*. **J. Comp. Physiol**. v.173, p.309-317, 2003.

SANTOS, T.; BASTIN, R.; FELDEN, J.; RAUBER, A.M.; REYNALTE-TATAJE, D.A.; MELLO, F.T. First record of microplastics in two freshwater fish species (*Iheringthys labrosus* and *Astyanax lacustris*) from the middle section of the Uruguay River, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, 2020.

SILVA, T.P.S. Primeira evidência de ingestão de microplásticos por peixes do estuário do rio Amazonas. Altamira, PA. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Pará; 2018.

SUZUKI, Y.; IIDA, T. Fish granulocytes in the process of inflammation. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 2, p. 149-160, 1992.

VIJAYARAGHAVAN, G.; NEETHU, K.V.; ANEESH, B.P.; SURESH, A.; SARANYA, K.S.; NANDAN, S.B.; SHARMA, K.V. Evaluation of toxicological impacts of Polyvinyl Chloride (PVC) microplastics on fish, *Etroplus suratensis* (Bloch, 1790), Cochin estuary, India. **Toxicology and Environmental Health Sciences**, v. 14, n. 2, p. 131-140, 2022.

WANG, J.; LI, Y.; LU, L.; ZHENG, M.; ZHANG, X.; TIAN, H.; WANG, W.; RU, S. Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*). **Environmental Pollution**, v. 254, p. 113024, 2019.