

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**ANÁLISE DESCRITIVA, COMPARATIVA E MORFOMÉTRICA
DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS DE CERVÍDEOS NEOTROPICAIS**

EDUARDO AUGUSTO TERRA ROSSI DE BARROS

Botucatu, São Paulo.

FEVEREIRO DE 2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**ANÁLISE DESCRITIVA, COMPARATIVA E MORFOMÉTRICA
DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS DE CERVÍDEOS NEOTROPICAIS**

EDUARDO AUGUSTO TERRA ROSSI DE BARROS

Manuscrito para defesa apresentado junto ao
Programa de Pós-graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernandes
Marcusso

Coorientador: Prof. Dr. José Maurício Barbanti
Duarte

Botucatu, São Paulo

B277a Barros, Eduardo Augusto Terra Rossi de
Análise descritiva, comparativa e morfométrica das células
sanguíneas de cervídeos neotropicais / Eduardo Augusto Terra Rossi
de Barros. -- Botucatu, 2026
36 p. : tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Paulo Fernandes Marcusso
Coorientador: José Maurício Barbanti Duarte

1. Hematologia. 2. Animais Selvagens. 3. Patologia Clínica. 4.
Conservação. 5. Cervídeos. I. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

EDUARDO AUGUSTO TERRA ROSSI DE BARROS

ANÁLISE DESCRITIVA, COMPARATIVA E MORFOMÉTRICA DAS CÉLULAS
SANGUÍNEAS DE CERVÍDEOS NEOTROPICAIS

06/02/2026

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Botucatu, SP

Prof. Dr. José Gabriel Gonçalves Lins

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Botucatu, SP

Profa. Dr. Michelly Fernandes de Macedo

Membro

Departamento de Ciências Animais, Centro de Ciências Agrárias - CCA

Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN

Botucatu, São Paulo.

Fevereiro de 2026

Agradecimentos

Agradeço à minha família, minha mãe Suzana, meu pai Paulo, minha avó Inês, minha irmã Marjorie, meus companheiros não-humanos Aslam e Fred e ao meu falecido avô Claudemir. Sem vocês, eu nada seria.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso, que tão bem me orientou e aceitou todos estes desafios e aventuras comigo. A admiração que tenho pelo senhor é gigante.

A todos meus amigos que estiveram comigo nesta caminhada. Todos vocês foram essenciais para que isso se tornasse realidade, pois “para pequenas criaturas como nós, a vastidão só é suportável através do amor”.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Temos um grande problema se não entendermos
o planeta que queremos salvar.”

- Carl Sagan

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esse estudo impacta positivamente na vida dos animais por trazer dados e referências que serão utilizados em prol da conservação de espécies, uma vez que seu objetivo principal é a análise sanguínea, usada para exames de triagem, terapêutica, diagnóstico e prognóstico de animais que cada vez mais necessitam de atendimento veterinário especializado. Além disso, o estudo apresenta dados hematimétricos inéditos na literatura de diferentes espécies brasileiras, auxiliando na formação e entendimento de médicos veterinários sobre as células desses animais. Assim, os propósitos do estudo vão de encontro com o 4º e o 15º objetivos dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) que visa a “Qualidade de Educação” e “Vida Sobre a Terra”.

Lista de tabelas

Tabela 1. Valores morfométricos de área e perímetro médios e desvio padrão das células sanguíneas e plaquetas das espécies de cervídeos estudadas.

Tabela 2. Valores morfométricos de eixo mínimo e eixo máximo médios e desvio padrão das células sanguíneas e plaquetas das espécies de cervídeos estudadas.

Tabela 3. Valores morfométricos de área e perímetro de núcleo médios e desvio padrão dos leucócitos das espécies de cervídeos estudadas.

Tabela 4. Valores estatísticos dos testes de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Cervídeos	2
2.2 Hemácias	8
2.3 Leucócitos.....	9
2.4 Plaquetas.....	10
3. OBJETIVOS	100
3.1. Objetivo geral	100
3.2. Objetivos específicos	100
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1. Comissão de Ética	11
4.2. Animais	11
4.3. Confecção dos esfregaços sanguíneos.....	11
4.4. Coloração Wright Giensa.....	12
4.5. Leitura das lâminas.....	12
4.6. Mensuração de parâmetros celulares.....	13
4.7. Análise estatística	13
5. RESULTADOS.....	13
6. DISCUSSÃO	19
7. CONCLUSÃO	22
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

Resumo

O sangue é um tecido que possui extrema importância na manutenção da homeostasia, pois permite a oxigenação de outros tecidos, transporta nutrientes e hormônios, auxilia no controle ácido-básico e constitui um meio de transporte para células de defesa migrarem para o local sinalizado. Assim, o hemograma se torna uma das principais ferramentas para avaliação hematológica, pois permite avaliar parâmetros qualitativos e quantitativos do sangue, auxiliando na conduta veterinária a ser tomada. O objetivo geral deste trabalho foi realizar a análise descritiva e morfométrica das células sanguíneas de diferentes espécies de cervídeos neotropicais, comparando-as entre elas. Para isso, foram coletadas amostras sanguíneas de 20 indivíduos de sete espécies de cervídeos e confeccionados esfregaços sanguíneos para leitura em microscopia e fotomicrografia das células, mensurando área, perímetro eixos mínimo e máximo do citoplasma e área e perímetro dos núcleos, realizando os testes de análise de variância (ANOVA), t de Student e de Tukey. Notou-se diferença significativa de tamanho entre todas os tipos celulares, exceto em eosinófilos, e diferenças morfológicas evidentes entre as células das espécies. As hemácias apresentaram formato falciforme em duas espécies: *Mazama nana* e *M. jucunda*, enquanto em neutrófilos e linfócitos foram observadas granulações descritas em ruminantes domésticos, os eosinófilos se mostraram diferentes quanto a distribuição e tamanho de grânulos eosinofílicos e nas plaquetas são observadas granulações bem visíveis e numerosas. Portanto, conclui-se que, por meio deste estudo, as células sanguíneas apresentaram diferenças morfométricas e particularidades morfológicas entre as espécies estudadas. Essa descrição inédita permite destacar essas diferenças entre indivíduos saudáveis das espécies estudadas, fornecendo uma base de dados hematológicos aos médicos veterinários da área de animais selvagens e da patologia clínica quando forem realizar hemogramas desses animais. Ao saber o que é esperado como normalidade em cada espécie, se torna mais difícil a ocorrência de erros analíticos e a conservação das espécies se torna mais efetiva.

Palavras-chave: hematologia, espécies ameaçadas, conservação *ex-situ*

Abstract

Blood is a tissue of utmost importance in the maintenance of homeostasis, facilitating the tissue oxygenation, transporting nutrients and hormones, assisting in acid-base control, and providing a transport medium for defense cells to migrate to targeted locations. Thus, the complete blood count (CBC) emerges as a principal tool for hematological evaluation, as it permits the assessment of both qualitative and quantitative blood parameters, thereby aiding in the veterinary course of action. The main objective of this work was to conduct a descriptive and morphometric analysis of blood cells from different neotropical cervid species, comparing them with one another. To this end, blood samples were collected from 20 individuals across seven cervid species, and blood smears were prepared for microscopic examination and cell photomicrography. Measurements included the area, perimeter, and minimum/maximum axes of the cytoplasm, along with the area and perimeter of the nuclei. Statistical analysis was performed using analysis of variance (ANOVA), Student's t-test, and Tukey's test. Significant differences in size were observed among all cell types, with the exception of eosinophils, and clear morphological distinctions were evident between the cells of the different species. Erythrocytes exhibited a falciform shape in two species: *Mazama nana* and *M. jucunda*, whereas neutrophils and lymphocytes displayed granulations as described in domestic ruminants. Eosinophils varied regarding the distribution and size of their eosinophilic granules. Platelets display numerous and prominent granules. In conclusion, this study demonstrates that blood cells present morphometric differences and specific morphological features among the studied species. This unprecedented description serves to highlight these variations in healthy individuals, furnishing a database for wildlife veterinarians and clinical pathology specialists for the hematological analysis of these animals. An understanding of the expected normal parameters for each species makes the occurrence of analytical errors less likely and the conservation of the species becomes more effective.

Keywords: hematology, endangered species, *ex-situ* conservation

INTRODUÇÃO

O sangue é um tecido conjuntivo composto por uma parte líquida e uma parte celular. A parte líquida é chamada de plasma, do qual contém vários solutos orgânicos, como minerais, enzimas e hormônios, enquanto que a parte celular é composta por eritrócitos, leucócitos e trombócitos, no caso de não-mamíferos, ou plaquetas, no caso de mamíferos, que são fragmentos citoplasmáticos de megacariócitos, suspensos no plasma (González & Silva, 2008; Junqueira, 2023).

O tecido sanguíneo tem como principal função o transporte de células e substâncias essenciais para a homeostasia, tais como oxigênio, dióxido de carbono, nutrientes e hormônios, levados do local de absorção ou síntese até o local alvo, além de metabólitos das próprias células, indesejáveis ao organismo, que serão levados a órgãos responsáveis pela excreção. Há também sua importância na defesa do organismo frente a infecções ou outras injúrias teciduais, sendo o sangue o transportador das células de defesa para os locais sinalizados através de mediadores inflamatórios e quimiocinas, ocorrendo então a diapedese e ação defensora no tecido lesado (González & Silva, 2008; Junqueira 2017).

O hemograma é a principal ferramenta utilizada para avaliação hematológica, pois permite a análise dos três principais componentes do sangue periférico: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. É um exame solicitado por diversas razões, como para um check-up, auxílio ao diagnóstico de doenças, verificar habilidades corporais frente às infecções e progressão de doenças (Dolanhol *et al.*, 2009; González & Silva, 2008). O exame é realizado por meio de avaliação quantitativa, que pode ser realizada manualmente ou de forma automatizada por contadores, juntamente com avaliação qualitativa, feita no esfregaço corado por meio de microscopia óptica, visando identificar os subtipos celulares, avaliar sua morfologia e realizar contagens diferenciais ou mesmo indiretas (Failace, 2015).

Na medicina veterinária, o hemograma é o exame mais solicitado devido à praticidade, economia e utilidade na rotina clínica. No caso de animais selvagens, é um procedimento relevante, pois revela o estado de saúde e resposta do indivíduo a vários fatores, sendo uma ferramenta importante na conservação de espécies silvestres (Mendes, 2018).

Os cervídeos são mamíferos da família Cervidae, divididos em 18 gêneros com 56 espécies descritas, distribuídos por todo globo, exceto no continente antártico. São caracterizados por possuírem chifres verdadeiros, serem ruminantes e ungulados, andando sobre dois dos quatro dedos com casco presentes nos membros (Azevedo, Oliveira, Duarte, 2021). Atualmente, com o avanço de técnicas moleculares, detectou-se que várias espécies são consideradas crípticas dentro de um complexo polifilético, ou seja, espécies com mesma morfologia, porém que não são compatíveis cromossomicamente (Peres *et al.*, 2021). Assim, atuais estudos são desenvolvidos e sua taxonomia sendo alterada para melhor conhecimento e conservação das espécies.

Com o declínio populacional e risco de extinção das espécies de cervídeos selvagens por alterações climáticas, desmatamento, queimadas, uso excessivo de recursos naturais e introdução de espécies exóticas, é fundamental a prática da conservação *ex-situ* (i.e., manutenção de indivíduos sob cuidados humanos fora do habitat natural), pois acabam se tornando uma valiosa fonte de conhecimento, além de proporcionarem banco de materiais biológicos, genéticos e a própria reprodução da espécie (Piratelli & Francisco, 2013), como ocorre no Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE).

REVISÃO DE LITERATURA

Cervídeos

A família Cervidae, pertencente à ordem Artiodactyla, é composta por 56 espécies, com nove dessas encontradas no Brasil, sendo elas *Blastocerus dichotomus*, *Ozotoceros bezoarticus*, *Odocoileus virginianus*, *Subulo gouazoubira*, *Passalites nemorivagus*, *Mazama nana*, *M. rufa*, *M. americana* e *M. jucunda*. São mamíferos ungulados, ruminantes, que possuem chifres verdadeiros e apresentam porte variado, habitando uma grande variedade de habitats pelo globo, exceto no continente antártico. As três primeiras espécies supracitadas (*B. dichotomus*, *O. bezoarticus* e *O. virginianus*) se destacam pelo grande porte e pela presença de chifres ramificados, enquanto as espécies restantes possuem menor porte e chifres sem ramificações (Azevedo, Oliveira, Duarte, 2021).

O cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) é o maior cervídeo da América do Sul, podendo chegar a 150 kg, com altura de cernelha de até 1,3 m. Os chifres ramificados chegam a ter de 4 a 10 pontas, variando conforme a idade e disponibilidade de alimentos. A coloração dos pelos é geralmente avermelhada, já na região dos membros, cauda e focinho, a pelagem é enegrecida. Habita áreas alagáveis de vegetação aberta, como várzeas e banhados, tendo sua distribuição fragmentada devido à ocupação pela agricultura e usinas hidrelétricas dessas regiões. Atualmente, é considerado uma espécie “vulnerável” pela IUCN (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).

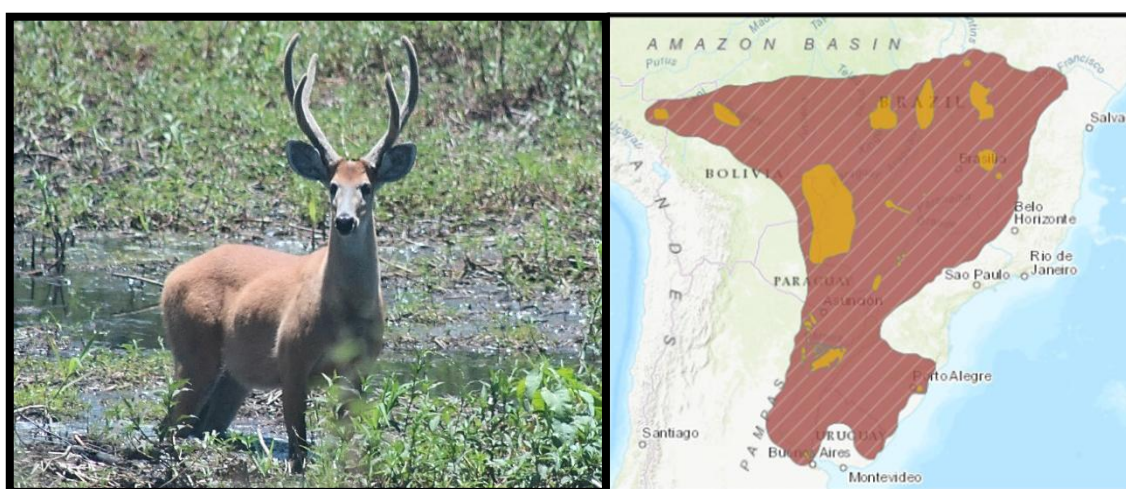


FIGURA 1. Indivíduo de cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) e sua área de distribuição atual (áreas em laranja) e antiga distribuição (áreas em vermelho). Foto: Acervo pessoal, 2022; Mapa: IUCN, 2026.

O veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) é um cervídeo de porte médio, pesando entre 20 a 40 kg, com altura de aproximadamente 65 cm de cernelha. Os chifres chegam a 3 pontas em idade adulta e fase reprodutiva. A pelagem é predominantemente baia, chamando atenção a cor branca em região periorbital, parte interna da orelha, lateral do focinho e ventre. É uma espécie altamente correlacionada com campos abertos, como nos biomas do Pantanal, Cerrado e Pampa. Pela IUCN, é considerado como uma espécie “quase ameaçada” (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).

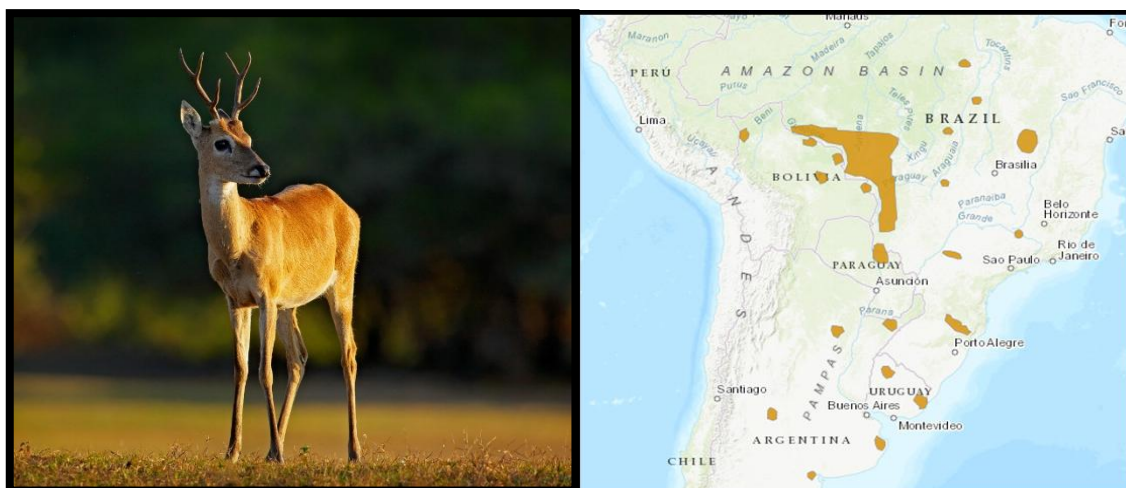


FIGURA 2. Indivíduo de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) e sua área de distribuição atual. Foto: Murray Thomas; Mapa: IUCN, 2026.

O veado-galheiro (*Odocoileus virginianus*) é considerado um cervídeo de porte médio, tendo grande variação de tamanho e peso, entre 50 a 120 kg e altura entre 50 a 1,1 m. Os chifres possuem 3 ou 4 pontas quando em idade adulta e fase reprodutiva. Ocupa áreas abertas com árvores esparsas, florestas e savanas. No Brasil, ocorre apenas no Amapá, Rondônia e pequena porção do Amazonas, porém é abundante no hemisfério norte, sendo assim uma espécie considerada “pouco preocupante” pela IUCN (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).



FIGURA 3. Indivíduo de veado-galheiro (*Odocoileus virginianus*) e sua área de distribuição atual. Foto: Bill Maynard; Mapa: IUCN, 2026.

O veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*), antigamente chamado de *Mazama gouazoubira*, foi renomeado em 2022 após análises filogenéticas

confirmarem que o gênero *Mazama*, na verdade é um grupo polifilético, de espécies com ancestrais diferentes, sendo necessário então a diferenciação da espécie em um outro gênero (Duarte *et al.*, 2022). É um cervídeo de pequeno a médio porte, com peso variando de 11 a 25 kg e altura entre 50 a 55 cm de cernelha. A coloração é muito variável, indo de cinza-escuro ao marrom-avermelhado, sendo uma pinta branca acima dos olhos um diferencial das outras espécies, presente na maioria dos indivíduos do gênero *Subulo*. Habita áreas de Caatinga, Cerrado, Cerradões e matas fechadas, como matas de galeria e o bioma da Mata Atlântica, além de terem grande capacidade de adaptação a áreas antropizadas, sendo assim a espécie mais abundante da América do Sul, considerada então em estado “pouco preocupante” pela IUCN (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014).



FIGURA 4. Indivíduo de veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) e sua área de distribuição atual. Foto: domínio público; Mapa: IUCN, 2026.

1

2 O veado-roxo (*Passalites nemorivagus*), antigo *Mazama nemorivaga*, foi
 3 renomeado após análises morfológicas, citogenéticas e filogenéticas (Donoso-
 4 Morales *et al.*, 2023). Pesa em torno de 15 kg, com altura aproximada de 48 cm.
 5 A coloração é cinza-mesclada, tendo pelos amarelados nas laterais do corpo.
 6 Ocupa principalmente o bioma amazônico, sendo característico da região norte
 7 do Brasil. É atualmente considerado em estado “pouco preocupante” pela IUCN
 8 (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).



FIGURA 5. Indivíduo de veado-roxo (*Passalites nemorivagus*) e sua área de distribuição atual. Foto: Christoph Moning; Mapa: IUCN, 2026.

O veado-mão-curta (*Mazama nana*) pesa em torno de 15 kg e altura de aproximadamente de 45 cm de cernelha, sendo a menor espécie do gênero *Mazama*. A coloração é homogeneamente avermelhada, sem muitas gradações, tendo poucos pelos brancos, exceto na cauda. É caracterizado pelos membros anteriores pequenos, o que origina o nome popular. Habita áreas montanhosas e cobertas por vegetação densas de florestas ombrófilas mistas, que vem sendo devastada, diminuindo a população, sendo assim, é considerado como “vulnerável” pela IUCN (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).

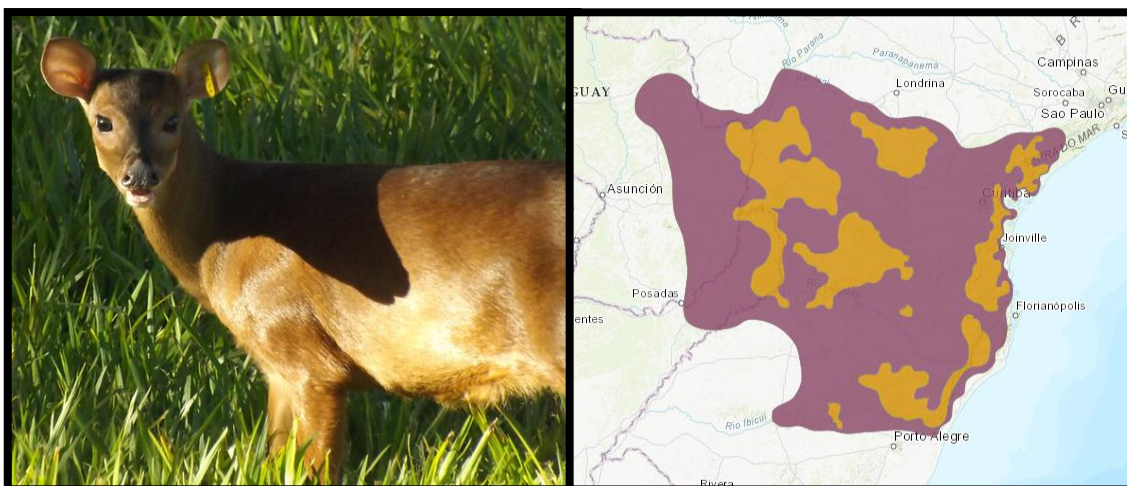


FIGURA 6. Indivíduo de veado-mão-curta (*Mazama nana*) e sua área de distribuição atual (áreas em laranja) e possível área de ocorrência (áreas em roxo). Foto: Natália Azevedo; Mapa: IUCN, 2026.

O veado-mateiro (*Mazama americana*) é a maior espécie do gênero, pesando até 45 kg e de altura aproximada de 65 cm de cernelha. A coloração é avermelhada, com regiões brancas na cauda, parte medial dos membros pélvicos, ponta da maxila e face interna da orelha. Ocupa áreas de florestas densas e pouca capacidade de adaptação a áreas antropizadas. Por ser um gênero considerado polifilético, a espécie possui dados insuficientes pela IUCN, não tendo um estado de conservação bem definido. Ainda assim, estudos são feitos com o complexo *Mazama* para diferenciar prováveis espécies, como aconteceu com a espécie *Mazama rufa* (Duarte *et al.*, 2021; Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).



FIGURA 7. Indivíduo de veado-mateiro (*Mazama americana*) e sua área de distribuição atual. Foto: Silvia Linhares; Mapa: IUCN, 2026.

O *Mazama rufa* (veado-mateiro-do-sul) é uma das espécies que foram revalidadas como uma diferente espécie do complexo polifilético *Mazama americana* (veado-mateiro) (Peres *et al.*, 2021). É também conhecido como veado-mateiro, assim possui grande semelhança morfológica com o seu grupo polifilético de origem, com distribuição na Mata Atlântica, Cerrado e sul da Floresta Amazônica. Como foi recentemente diferenciada, a espécie ainda não possui estado de conservação relatado na IUCN (Duarte *et al.*, 2021).

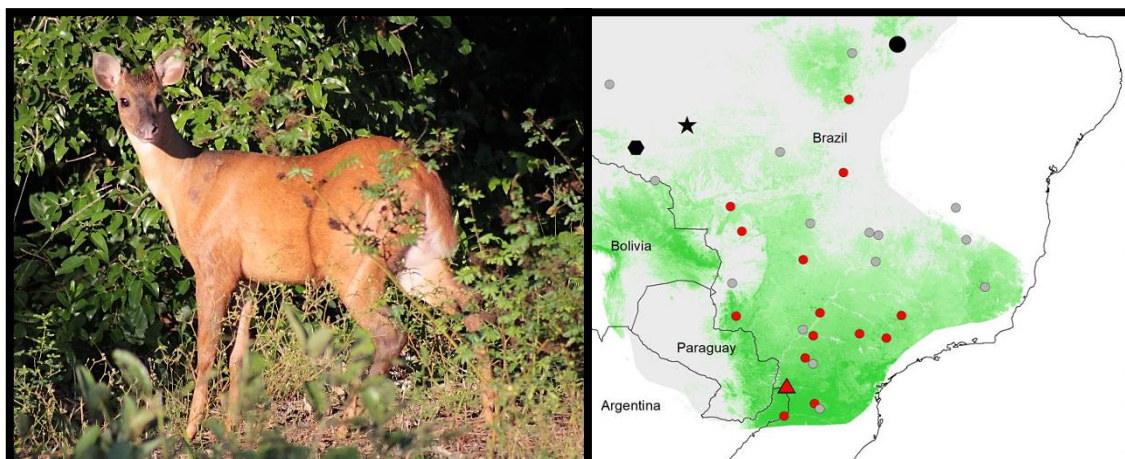


FIGURA 8. Indivíduo de veado-mateiro-do-sul (*Mazama rufa*) e sua área de distribuição atual (vestígios encontrados da espécie em pontos vermelhos). Foto: acervo pessoal; Mapa: Peres *et al.*, 2021.

O veado-mateiro-pequeno (*Mazama jucunda*), antigo *M. bororo*, é uma espécie de porte intermediário, com peso médio de 25 kg e altura entre 50 a 62 cm de cernelha. De coloração avermelhada com as laterais do pescoço acinzentadas e mais escurecido na região dorsal, sua distribuição consiste na Mata Atlântica do litoral do sudeste e sul, sendo considerada como “vulnerável” pela IUCN (Duarte *et al.*, 2016; Cubas, Silva, Catão-Dias, 2014; Duarte, 1996).



FIGURA 9. Indivíduo de veado-mateiro-pequeno (*Mazama jucunda*) e sua área de distribuição atual (área em laranja) e possível área de ocorrência (área em roxo). Foto: acervo pessoal; Mapa: IUCN, 2026.

Hemácias

Os eritrócitos são células que contêm grandes quantidades de hemoglobina, proteína responsável por carrear a maior parte de oxigênio e dióxido de carbono pelo sangue (Junqueira, 2023). A membrana dessas células

é composta por lipídios, proteínas e carboidratos, conferindo permeabilidade e flexibilidade à estrutura, além de proporcionar o formato normal da célula, que varia de espécie para espécie. Os eritrócitos de mamíferos são anucleados, diferentemente de todos os outros vertebrados, dos quais possuem núcleo. Geralmente possuem formato bicôncavo e são arredondados na maioria dos animais da classe Mammalia, com exceção da família Camelidae (e.g. camelos, dromedários, lhamas, alpacas), que apresentam eritrócitos de formato oval (Thrall *et al.*, 2024). O formato bicôncavo permite maior eficiência nas trocas gasosas e maior maleabilidade, além de fazer com que a área central da célula tenha aspecto de maior palidez, devido a menor quantidade de hemoglobina na região, sendo mais aparente em algumas espécies, como no cão, do que em outras, como em felinos ou bovinos (Thrall *et al.*, 2024).

Leucócitos

Os leucócitos são as células de defesa do organismo, atuando contra infecções ou outras injúrias teciduais e na reparação desses tecidos danificados. Os neutrófilos são células polimorfonucleares e os leucócitos circulantes mais abundantes do sangue, sendo uma das primeiras células a chegarem no sítio lesado, principalmente em reações inflamatórias agudas (Abbas *et al.*, 2023). Os monócitos são fagócitos mononucleares que, ao migrarem para tecidos adjacentes, se transformam em macrófagos, sendo as maiores células circulantes do sangue, com morfologia nuclear característica em formato de feijão (Geissmann *et al.*, 2010; Cros *et al.*, 2010; Abbas *et al.* 2023). Os linfócitos atuam na imunidade adaptativa, com diversos receptores antigênicos específicos, e possuem uma morfologia característica, em que seu núcleo arredondado ocupa quase que completamente o citoplasma (Junqueira, 2023). Já os basófilos e os eosinófilos estão presentes em menor quantidade no sangue da maioria dos animais em comparação aos outros leucócitos circulantes quando em condições fisiológicas normais (Barthold *et al.*, 2016). São células que possuem grânulos citoplasmáticos contendo vários mediadores inflamatórios e antimicrobianos, liberados mediante ativação, sendo muito correlacionados a respostas imunes contra helmintos (Abbas, 2023).

Plaquetas

As plaquetas dos mamíferos são fragmentos citoplasmáticos anucleados que atuam na hemostasia primária, originadas dos megacariócitos, presentes na medula óssea, sendo uma das maiores células existentes no organismo animal (Hoffbrand & Moss, 2018; Meinkoth, 2024).

Cada megacariócito origina por volta de 1.000 a 5.000 plaquetas, que se formam pela fragmentação das extremidades de extensão do citoplasma, processo regulado pela trombopoetina (TPO) (Borelli, 2024).

Sua estrutura é composta pelo glicocálice, onde estão presentes proteínas de carga negativa, responsáveis primárias pela repulsão entre as plaquetas, demais células sanguíneas e o endotélio; pela membrana plasmática, semelhante à de outras células; um citoesqueleto, formando um sistema contrátil para quando ativada; um sistema de membranas compostos por sistemas canicular e tubular que regulam a concentração de cálcio plaquetário; e organelas, como mitocôndrias, peroxissomos e grânulos glicogênicos, lisossomais e os chamados grânulos alfa e grânulos densos, essenciais para função plaquetária (Castro *et al.* 2006; Hoffbrand & Moss, 2018; Borelli, 2024).

Em não-mamíferos (i.e., aves, répteis, anfíbios e peixes), as plaquetas são chamadas de trombócitos, pois são células verdadeiras nucleadas e com função imune, além de possuírem origem distinta dos mamíferos (Claver & Quaglia, 2009; Nagasawa *et al.*, 2014).

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Realizar análise descritiva, morfológica e morfométrica das células sanguíneas e plaquetas comparando-as entre as espécies de cervídeos neotropicais.

Objetivos específicos

- Mensurar tamanho das células sanguíneas, plaquetas e núcleos celulares comparando entre as espécies estudadas;
- Descrever e comparar o formato das células sanguíneas e plaquetas nas diferentes espécies;

- Identificar principais características morfométricas em hemácias, leucócitos e plaquetas.

MATERIAL E MÉTODOS

Comissão de Ética

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”), Campus Botucatu, São Paulo, sob o protocolo 000.083, do ano de 2024.

Animais

Foram coletadas amostras sanguíneas de 20 indivíduos de sete espécies de cervídeos neotropicais nativos em cativeiro, machos e fêmeas adultos, clinicamente hígidos, sendo quatro *Blastocerus dichotomus*, um *Ozotoceros bezoarticus*, quatro *Subulo gouazoubira*, um *Passalites nemorivagus*, dois *Mazama juncunda*, dois *Mazama nana* e seis *Mazama rufa*. Todos os animais fazem parte do plantel do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) - UNESP Câmpus Jaboticabal.

Para o manejo, os animais foram encaminhados para a sala de indução e recuperação anestésica onde, com o rifle de pressão, é atirado o dardo contendo Cetamina 7 mg/kg e Xilazina 1 mg/kg, visando atingir a musculatura dos membros posteriores. Com o animal sedado, é então colocado na sala de procedimentos com os olhos e os ouvidos vedados para evitar estímulos visuais e sonoros maiores, além de manter o indivíduo em decúbito lateral direito, visando manter o rúmen sem compressão, o que evita regurgitação e possível aspiração de conteúdo. Ao final da coleta, o animal é colocado novamente na sala de indução e recuperação anestésica com as luzes apagadas para um retorno anestésico com baixos estímulos.

Confecção dos esfregaços sanguíneos

A coleta de sangue venoso da veia jugular foi feita por meio de venopunção à vácuo, com o sangue alocado em tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético K3 (EDTA K3) e homogeneizado. Imediatamente após a coleta, com o uso de micropipeta, foram coletados 50 µl de sangue do tubo e colocados em forma de gota em uma lâmina de vidro e, com o uso de uma lâmina

extensora, a gota foi distendida pela lâmina, confeccionando assim o esfregaço sanguíneo.

Foram realizados dois esfregaços sanguíneos por indivíduo, totalizando assim um total de 40 lâminas de esfregaço sanguíneo. Todas as lâminas foram submetidas ao processo de coloração pela técnica de Wright-Giemsa.

Coloração Wright-Giemsa

A coloração Wright-Giemsa consiste na mistura de azul de metileno e eosina, corando com destaque estruturas como núcleo, RNA citoplasmático, hemoglobina e grânulos basofílicos e eosinofílicos. A técnica consiste na aplicação em gotas do corante na lâmina do esfregaço sanguíneo seco até que esta fique totalmente coberta com a solução. A lâmina fica em repouso por três minutos, procedendo então para a aplicação da solução tampão de pH próximo de 7,2, até que a solução que recobre a lâmina fique com aspecto metálico, deixando em descanso por mais sete minutos. Após o período estipulado, a lâmina foi lavada com água destilada corrente e seca a temperatura ambiente.

Leitura das lâminas

As lâminas foram lidas e analisadas por meio de microscópio óptico modelo OLYMPUS BX60 e fotomicrografadas, em objetiva de imersão (1.000x), através do software OPTHD Opticam ®.

Para cada espécie de cervídeo, foram selecionadas 200 hemácias, 200 plaquetas, 50 neutrófilos, 10 linfócitos, cinco monócitos e cinco eosinófilos, totalizando ao todo 1.400 hemácias, 1.400 plaquetas, 350 neutrófilos, 70 linfócitos, 35 monócitos e 35 eosinófilos, tendo 3.290 células mensuradas no total.

Para a seleção de hemácias e plaquetas, foram fotomicrografados campos cheios da região da monocamada do esfregaço e selecionadas 20 hemácias e 20 plaquetas íntegras por campo.

Para a seleção de leucócitos, a procura das células foi realizada assim como ocorre na contagem diferencial de leucócitos do Serviço de Patologia Clínica Veterinária do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Câmpus Botucatu, iniciando na extremidade da cauda do esfregaço seguindo sentido à base da lâmina, em “zigue-zague”.

Mensuração de parâmetros celulares

As fotomicrografias das células selecionadas foram abertas no software OPTHD Opticam ®, onde foram utilizadas ferramentas digitais para a mensuração.

Para a mensuração de área, perímetro, diâmetro maior e diâmetro menor da célula, foi utilizada a ferramenta “elipse”, em que por meio do posicionamento de quatro pontos pela borda do citoplasma, o programa irá calcular, na unidade de medida em μm , os parâmetros acima mencionados por meio da formação de uma elipse que se passa pelos quatro pontos posicionados.

Para a mensuração de núcleos e de células com formatos irregulares, foi utilizada a função “polígono”, em que por meio do posicionamento de pontos em quantidade ilimitada, foi possível delimitar a área do formato irregular da estrutura, sendo calculado pelo programa a área e perímetro.

Análise estatística

Para a mensuração de cada célula de cada espécie, foram calculados a média aritmética simples e o desvio padrão pelo programa Microsoft Office Excel. Para a comparação das mensurações entre as espécies, foi realizado o teste de análise de variância (ANOVA) para a hipótese de haver diferença significativa entre as mensurações das diferentes espécies estudadas e, nos casos em que o teste indicou diferença estatística, foi realizado o teste de Tukey para indicar entre quais grupos houve essa diferença.

Pelo teste de análise de variância (ANOVA), são calculados o F e o F-crítico. Caso o F seja maior que o F-crítico, rejeitamos a hipótese nula, sendo então considerado que há diferença significativa entre pelo menos dois grupos. Para descobrir entre quais grupos há diferença estatisticamente significativa, é realizado o teste de Tukey, em que é calculado a diferença mínima significativa (DMS). Assim, caso a diferença entre dois grupos seja igual ou maior à DMS, consideramos que há diferença estatisticamente significativa entre esses grupos comparados.

RESULTADOS

A área e o perímetro total das células foram os parâmetros principais para a comparação de tamanho celular entre as espécies.

TABELA 1. Valores morfométricos de área e perímetro médios e desvio padrão das células sanguíneas e plaquetas das espécies de cervídeos estudadas.

Célula	Mensuração	<i>Blastocerus dichotomus</i>	<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	<i>Subula gouazoubira</i>	<i>Passalites nemorivagus</i>	<i>Mazama nana</i>	<i>Mazama rufa</i>	<i>Mazama jucunda</i>
Hemácias	área (μm^2)	26,33	17,48	11,49	21,01	8,14	13,8	14,48
	$\pm$	3,72	1,77	1,29	2,87	1,74	1,79	1,5
	perímetro (μm)	18,17	14,82	11,96	16,17	12,2	13,11	13,44
Neutrófilos	$\pm$	1,32	0,74	1,29	1,36	1,57	1,04	1,04
	área (μm^2)	157,9	172,5	152	145,8	130,5	149,5	154,2
	$\pm$	19	16,73	15,58	20,73	17,14	16,15	20,03
Linfócitos	perímetro (μm)	45,06	49,52	44,87	44,05	42,5	43,43	46,24
	$\pm$	3,48	3,53	3,18	3,9	3,49	2,31	6,14
	área (μm^2)	101,3	117,1	96,02	81,54	89,98	114,4	90,63
Monócitos	$\pm$	18,5	16,25	20,08	16,58	21,53	15,59	19,89
	perímetro (μm)	37,2	39,6	35,54	34,28	35,48	37,9	36,27
	$\pm$	4,03	3,32	4,95	6,39	3,93	2,58	5,01
Eosinófilos	área (μm^2)	192,5	178,4	164,9	158	174,7	202,2	179,7
	$\pm$	17,67	17,89	16,57	26,5	26,91	18,69	9,15
	perímetro (μm)	49,81	50,21	48,03	47,25	60,18	52,12	50,92
Plaquetas	$\pm$	3,07	4,21	4,05	5,89	9,32	4,52	6,63
	área (μm^2)	167,62	164,93	144,19	139,1	158,04	183,35	170,39
	$\pm$	10,94	6,89	46,44	35,3	16,89	22,29	21,59
	perímetro (μm)	48,14	45,93	44,6	42,43	48,7	48,01	51,85
	$\pm$	1,22	2,43	7,55	5,39	5,14	3	7,81
	área (μm^2)	5,89	2,91	5,66	4,18	4,88	5,81	4,75
	$\pm$	2,43	1,25	4,99	1,87	1,85	2,13	1,72
	perímetro (μm)	8,59	6,03	8,17	7,21	7,79	8,48	7,67
	$\pm$	1,65	1,25	1,45	1,46	1,48	1,53	1,38

Os maiores valores obtidos pela mensuração de área total de hemácias foram observados em cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*), com área média de 26,3 μm^2 e perímetro médio de 18,17 μm , já os menores valores foram mensurados em veado-mão-curta (*Mazama nana*), com média de área de 8,14 μm^2 e perímetro médio de 12,2 μm . Em relação à morfologia das hemácias, duas espécies apresentaram os chamados drepanócitos, eritrócitos em formatos falciformes, sendo elas o veado-mão-curta (*M. nana*) (figura E.1) e o veado-mateiro-pequeno (*M. jucunda*) (figura G.1). O cervo-do-pantanal (*B. dichotomus*) e o veado-roxo (*Passalites nemorivagus*) apresentaram halo central pálido mais evidente que outras espécies (figuras A.1 e D.1, respectivamente).

Além disso, em cervo-do-pantanal (*B. dichotomus*), foi observada a formação de *rouleaux* em várias regiões da lâmina de esfregaço sanguíneo, aparentando ser uma espécie predisposta a formação desse fenômeno. O restante não apresentou diferenças dignas de nota, com hemácias típicas de mamíferos: anucleadas, arredondadas e bicôncavas. Todas as espécies apresentaram diferença significativa entre elas em relação à área total da hemácia, exceto entre *M. rufa* e *M. jucunda*, das quais não obtiveram diferença estatisticamente significativa.

Nos neutrófilos, as maiores médias foram obtidas em veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*), com área média de $172,5 \mu\text{m}^2$ e perímetro médio de $49,52 \mu\text{m}$, enquanto que as menores médias de área foram em veado-mão-curta (*M. nana*) assim como no caso das hemácias, com área média de $130,5 \mu\text{m}^2$ e perímetro médio de $42,5 \mu\text{m}$, sendo que a única espécie que apresentou diferença significativa em relação a todas as outras espécies foi o veado-campeiro (*O. bezoarticus*). Em relação à morfologia, no citoplasma dos neutrófilos de todos os cervídeos estudados, foram observados grânulos citoplasmáticos de coloração basofílica, com grande variação de distribuição e abundância intra e interespecífica. Os núcleos observados, com forte basofilia, apresentaram variações quanto ao número de ventres, variando de 3 a 6 segmentações, sendo todos distribuídos circundando o citoplasma celular, ocupando a região pericitoplasmática. Além disso, os neutrófilos foram os leucócitos mais abundantes no sangue destes animais. Assim, todas as espécies estudadas apresentaram um perfil predominantemente neutrofílico.

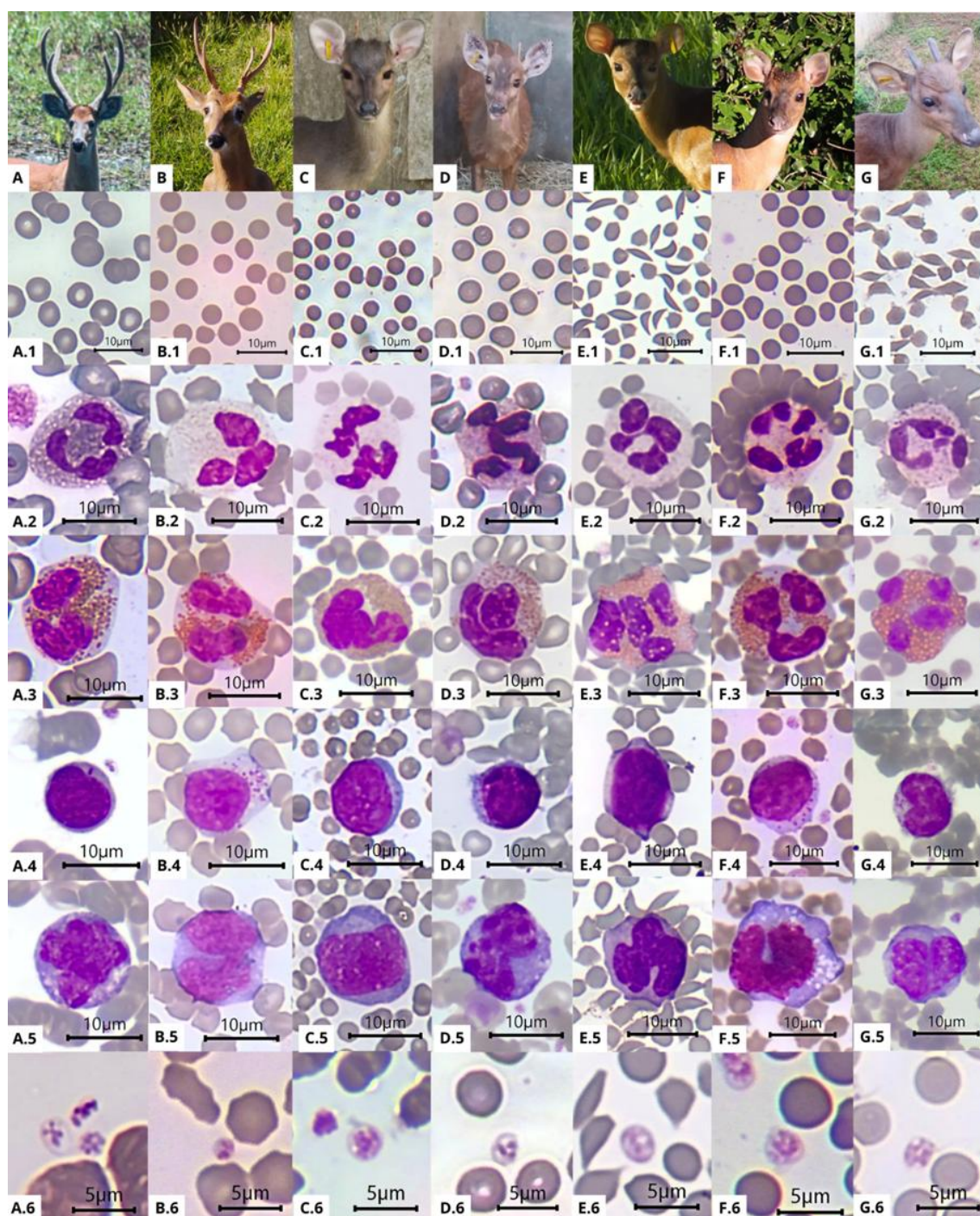


FIGURA 10. Espécies de cervídeos e fotomicrografia de suas respectivas células e plaquetas. Cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) (A); Veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) (B); Veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) (C); Veado-roxo (*Passalites nemorivagus*) (D); Veado-mão-curta (*Mazama nana*) (E); Veado-mateiro (*Mazama rufa*) (F); Veado-mateiro-pequeno (*Mazama jucunda*) (G); Hemácias (1); Neutrófilos (2); Eosinófilos (3); Linfócitos (4); Monócitos (5); Plaquetas (6). Coloração Wright-Giemsa.

Em relação aos linfócitos, a maior área média foi mensurada em veado-campeiro (*O. bezoarticus*), com $117,1 \mu\text{m}^2$ e perímetro médio de $39,6 \mu\text{m}$, enquanto que as menores médias em veado-roxo (*Passalites nemorivagus*), com área média de $81,54 \mu\text{m}^2$ e perímetro médio de $34,28 \mu\text{m}$, com diferença

significativa apenas entre eles, pois em relação às outras espécies, não houve diferença estatística significativa. A morfologia dos linfócitos não apresentou grandes variações, sendo a esperada em mamíferos: citoplasma escasso e núcleo com grande ocupação citoplasmática de formato arredondado a oval. Porém, foram observadas quantidades discretas de grânulos citoplasmáticos de linfócitos com frequência considerável em todas as espécies, exceto em veado-mão-curta (*M. nana*), da qual não foi observado grânulos em nenhum linfócito analisado.

Os monócitos se apresentaram maiores em veado-mateiro (*M. rufa*), com 202,2 μm^2 de área média e 52,2 μm de perímetro médio, enquanto que os menores monócitos foram mensurados em veado-roxo (*P. nemorivagus*), com área média de 158 μm^2 e perímetro médio de 47,25 μm . A análise de variância (teste ANOVA) indicou uma diferença estatisticamente significativa entre as médias dos grupos, no entanto, o teste *post-hoc* de Tukey não foi capaz de identificar diferenças significativas entre pares específicos de grupos. A morfologia dos monócitos apresentou variações intraespecíficas e interespecíficas, com núcleos de formatos irregulares, variações de intensidade de vacuolizações citoplasmáticas, sendo mais frequentes tais vacúolos em *B. dichotomus* (figura A.5) e *M. rufa* (figura F.5) com coloração ligeiramente mais basofílica que outras células.

Os eosinófilos mensurados obtiveram as maiores médias em veado-mateiro (*M. rufa*), com 183,35 μm^2 de área média e 48,7 μm de perímetro médio, enquanto que o veado-roxo (*P. nemorivagus*) apresentou a menor área média, de 139,1 μm^2 , e perímetro médio de 42,43 μm , com diferença significativa entre eles. Em relação à morfologia, os eosinófilos de cervo-do-pantanal (*B. dichotomus*) apresentaram grânulos pequenos e relativamente distribuído, porém ainda com alguns locais onde o citoplasma é visível. No veado-campeiro (*O. bezoarticus*), os núcleos analisados apresentaram pouca segmentação e os grânulos não são bem distribuídos, com certas áreas citoplasmáticas descobertas pelos grânulos. Em veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) e veado-mão-curta (*M. nana*), os eosinófilos apresentam grande quantidade de grânulos bem distribuídos, recobrimdo todo o citoplasma. Em veado-roxo (*P. nemorivagus*), os grânulos são bem distribuídos pelo citoplasma, porém com áreas periféricas descobertas de grânulos. O veado-mateiro (*M. rufa*) apresentou

variações, com algumas células com grânulos bem distribuídos recobrimdo o citoplasma e outras com grânulos pouco distribuídos, concentrados em certas regiões do eosinófilo. O veado-mateiro-pequeno (*M. jucunda*) possui visivelmente os maiores grânulos dentre as espécies estudadas, além de recobrir completamente o citoplasma.

As plaquetas mensuradas se apresentaram com uma área média maior em cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*), com $5,89 \mu\text{m}^2$, e perímetro médio de $8,56 \mu\text{m}$, enquanto que as menores médias foram em veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*), com $2,91 \mu\text{m}^2$ de área média e $6,03 \mu\text{m}$ de perímetro médio, sendo o *O. bezoarticus* a única espécie indicada pelo teste de variância (ANOVA) e teste de Tukey que possui diferença estatisticamente significativa quando comparada entre todas as outras espécies estudadas. A morfologia das plaquetas não-ativadas apresentou formatos discoides, descritas como normais das plaquetas de mamíferos, além de citoplasma levemente eosinofílico, enquanto que seus grânulos numerosos foram corados fortemente com características azurofílicas. O veado-campeiro (*O. bezoarticus*) se destaca em relação à sua morfologia plaquetária devido ao tamanho perceptivelmente menor no esfregaço sanguíneo quando comparado, em escala, à outras espécies.

TABELA 2. Valores morfométricos de eixo mínimo e eixo máximo médios e desvio padrão das células sanguíneas e plaquetas das espécies de cervídeos estudadas.

Célula	Mensuração	<i>Blastocerus dichotomus</i>	<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	<i>Subulo gouazoubira</i>	<i>Passalites nemorivagus</i>	<i>Mazama nana</i>	<i>Mazama rufa</i>	<i>Mazama jucunda</i>
Hemácias	eixo mín (μm)	5,54 $\pm 0,39$	4,55 $\pm 0,25$	3,69 $\pm 0,4$	4,98 $\pm 0,34$	2,51 $\pm 0,89$	4,05 $\pm 0,44$	4,17 $\pm 0,22$
	eixo máx (μm)	6,01 $\pm 0,46$	4,88 $\pm 0,26$	3,92 $\pm 0,42$	5,34 $\pm 0,39$	4,8 $\pm 1,3$	4,34 $\pm 0,29$	4,4 $\pm 0,23$
Neutrófilos	eixo mín (μm)	13,24 $\pm 1,73$	13,26 $\pm 1,27$	13,05 $\pm 0,84$	12,57 $\pm 1,17$	11,96 $\pm 1,04$	13,02 $\pm 0,97$	12,91 $\pm 1,08$
	eixo máx (μm)	15,08 $\pm 1,21$	16,34 $\pm 1,63$	14,79 $\pm 1,32$	14,23 $\pm 1,18$	13,34 $\pm 0,96$	14,57 $\pm 0,83$	14,83 $\pm 1,5$
Linfócitos	eixo mín (μm)	10,72 $\pm 0,93$	11,22 $\pm 1,09$	10,3 $\pm 1,03$	9,8 $\pm 1,23$	8,77 $\pm 10,63$	11,2 $\pm 11,19$	9,69 $\pm 1,03$
	eixo máx (μm)	11,79 $\pm 0,74$	12,97 $\pm 1,67$	11,51 $\pm 1,43$	10,76 $\pm 1,59$	9,32 $\pm 11,1$	12,1 $\pm 12,21$	11,15 $\pm 1,47$
Monócitos	eixo mín (μm)	12,09 $\pm 1,56$	13,46 $\pm 1,32$	13,58 $\pm 1,08$	13,4 $\pm 1,48$	14,46 $\pm 1,36$	14,95 $\pm 0,97$	13,76 $\pm 1,97$
	eixo máx (μm)	14,42 $\pm 1,08$	15,8 $\pm 1,29$	15,39 $\pm 0,98$	14,44 $\pm 1,16$	15,96 $\pm 1,01$	16,38 $\pm 0,34$	15,92 $\pm 0,9$
Eosinófilos	eixo mín (μm)	13,88 $\pm 0,95$	13,61 $\pm 0,83$	12,53 $\pm 1,61$	12,1 $\pm 1,65$	13,59 $\pm 0,96$	14,58 $\pm 1,03$	13,36 $\pm 0,83$
	eixo máx (μm)	16,1 $\pm 0,79$	15,31 $\pm 0,44$	13,62 $\pm 2,17$	14,13 $\pm 1,54$	14,59 $\pm 0,9$	15,96 $\pm 0,98$	15,12 $\pm 0,95$
Plaquetas	eixo mín (μm)	2,41 $\pm 0,45$	1,64 $\pm 0,37$	2,31 $\pm 0,44$	2,02 $\pm 0,45$	2,18 $\pm 0,42$	2,45 $\pm 0,54$	2,14 $\pm 0,4$
	eixo máx (μm)	3,01 $\pm 0,64$	2,17 $\pm 0,46$	2,88 $\pm 0,52$	2,55 $\pm 0,53$	2,75 $\pm 0,56$	2,96 $\pm 0,57$	2,76 $\pm 0,5$

TABELA 3. Valores morfométricos de área e perímetro de núcleo médios e desvio padrão dos leucócitos das espécies de cervídeos estudadas.

Célula	Mensuração	<i>Blastocerus dichotomus</i>	<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	<i>Subulo gouazoubira</i>	<i>Passalites nemorivagus</i>	<i>Mazama nana</i>	<i>Mazama rufa</i>	<i>Mazama jucunda</i>
Neutrófilos	área núcleo (μm^2)	55,3 ± 7,15	66,46 ± 8,72	65,08 ± 8,51	62,85 ± 11,08	57,65 ± 12,93	64,74 ± 7,7	64,35 ± 11,05
	per. núcleo (μm)	53,3 ± 8,16	50,8 ± 8,12	60,39 ± 8,02	64,72 ± 8,5	55,01 ± 9,31	62,27 ± 10,42	65,94 ± 13,64
Linfócitos	área núcleo (μm^2)	83,31 ± 96,9	75,35 ± 8,55	75,87 ± 14,4	61,08 ± 11,55	70,61 ± 14,42	80,67 ± 12,02	69,7 ± 13,28
	per. núcleo (μm)	34,3 ± 39,19	32,23 ± 2,41	29,95 ± 7,62	28,96 ± 3,21	31,02 ± 3,03	32,81 ± 2,44	31,86 ± 4,34
Monócitos	área núcleo (μm^2)	106,44 ± 14,46	111,77 ± 12,03	107,09 ± 9,76	100,66 ± 16,2	96,32 ± 20,18	126,67 ± 10,89	114,82 ± 15,53
	per. núcleo (μm)	43,91 ± 8,38	48,7 ± 5,68	46,49 ± 3,13	47,68 ± 6,7	43,05 ± 3,53	54,44 ± 8,09	48,06 ± 4,44
Eosinófilos	área núcleo (μm^2)	83,58 ± 8,89	69,09 ± 4,26	81,12 ± 20,7	68,22 ± 12,78	78,2 ± 7,84	85,98 ± 11,63	84,3 ± 9,56
	per. núcleo (μm)	62,52 ± 15,27	46,92 ± 6,14	57,43 ± 13,7	52,02 ± 9,16	65,26 ± 5,09	66,06 ± 6,32	79,13 ± 13,93

TABELA 4. Valores estatísticos dos testes de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey.

Mensuração	Hemácias	Neutrófilos	Linfócitos	Monócitos	Eosinófilos	Plaquetas
F-crítico	2,10	2,12	2,24	2,44	2,44	2,1
F	1303,83	24,58	5,08	2,56	1,65	34,31
DMS	0,99	15,02	34,45	5,20	-----	1,07

DMS = Diferença mínima significativa.

DISCUSSÃO

As hemácias falciformes, os drepanócitos, foram observadas em apenas duas das sete espécies estudadas: veado-mão-curta (*Mazama nana*) (figura E.1) e veado-mateiro-pequeno (*Mazama jucunda*) (G.1). Em *M. nana*, os drepanócitos foram encontrados mais bem distribuídos e em maior quantidade quando comparados aos encontrados em *M. jucunda*, que se concentravam em certas regiões da lâmina do esfregaço sanguíneo.

Os drepanócitos em cervídeos foram observados pela primeira vez por Gulliver (1840), descritos como células lunares crescentes e em formato de vírgula, notando que o grau e quantidade de alterações morfológicas aumentavam conforme o animal era submetido ao estresse e ao tempo em que o sangue coletado permanecia em repouso. Assim, Kitchen e colaboradores (1964) comprovaram que o fenômeno da falcização em veado-galheiro (*Odocoileus virginianus*) ocorria apenas *in vitro* em condições de pO₂ e pH elevados. Anos mais tarde, foram detectados diferentes tipos de cadeia β da

hemoglobina, em que algumas reagem com a pO₂ e pH alcalino e se polimerizam, alterando de forma, enquanto outros permanecem no formato típico de hemácias de mamíferos (Taylor, 1983).

No caso de *M. nana* e *M. jucunda*, não há estudos referentes aos tipos de cadeias β de hemoglobina e da ocorrência de drepanócitos nestas espécies, porém Chamut e colaboradores (2013) relataram a ocorrência das células falciformes em veado-catingueiro (*Subulo gouazoubira*) e dois diferentes tipos de hemoglobina. Porém, neste atual estudo, não foram observadas células falciformes em *S. gouazoubira*, mesmo com as amostras sob mesmas condições de pO₂ e pH que as amostras do gênero *Mazama* que apresentaram falcização. Nisto, necessita-se de mais estudos moleculares da hemoglobina das diferentes espécies e testes *in vitro* sob diferentes condições para elucidar como ocorre a sinalização para a alteração morfológica.

A palidez central das hemácias, observadas em *B. dichotomus* e *P. nemorivagus*, é provavelmente devido ao seu tamanho relativamente grande, que faz com que a hemoglobina seja melhor distribuída pela célula e a biconcavidade seja mais evidente, assim como ocorre nos cães (Thrall *et al.*, 2024).

As hemácias foram as células que apresentaram o menor desvio padrão de área em relação a todas as espécies, variando de 1,29 à 3,75, indicando baixa variabilidade dos valores em relação à média calculada.

Os neutrófilos dos cervídeos apresentaram grânulos neutrofílicos corados, bem distribuídos pelo citoplasma, com aspecto basofílico. Thrall e colaboradores (2024) destacam que os grânulos neutrofílicos normalmente são invisíveis ou discretamente corados nas espécies, mas que nos bovinos tais granulações são mais facilmente visualizadas. Considerando a taxonomia da família Cervidae e Bovidae, que se enquadram no mesmo clado (subordem Ruminantia), a comparação dos achados em bovinos e cervídeos em relação aos grânulos neutrofílicos visíveis é válida, pois compartilham de uma filogenética ancestral comum a nível de subordem (Chen *et al.*, 2019).

Os linfócitos achados apresentaram a morfologia típica esperada de mamíferos, com núcleo arredondado a oval e citoplasma escasso. Porém, foram achados com certa frequência linfócitos granulares, que possuem grande probabilidade de serem células T citotóxicas ou células *natural killer*. Além disso,

é descrito que o aparecimento desses linfócitos granulares são mais frequentes no sangue normal de ruminantes do que em outros grupos animais (Silva, 2017; Weiser, 2024).

Os monócitos são células que possuem naturalmente uma variação morfológica diversa em relação ao seu núcleo e citoplasma, ocorrendo variação interespecífica, intraespecífica e até mesmo no indivíduo, com seu núcleo em formato oval, em ferradura ou em formato de feijão com citoplasma basofílico e irregular, muitas vezes contendo vacuolizações (Silva, 2017; Weiser, 2024). Nos animais do estudo, os monócitos não apresentaram alterações ou estruturas distintas das esperadas para os mamíferos, mas todas as espécies de cervídeos condizem com a literatura em relação dessas células serem as maiores dentre os leucócitos circulantes do sangue periférico de mamíferos (Espinoza & Emmady, 2023), apesar de que em algumas espécies de felídeos, os maiores leucócitos circulantes são os eosinófilos (Barros *et al.*, 2024).

Os eosinófilos tendem a ser as células que possuem características morfológicas mais evidentes quanto à espécie-especificidade, considerando o tamanho, formato e distribuição dos grânulos (Barros *et al.*, 2024). No caso dos ruminantes em geral, os grânulos são todos em formatos arredondados e numerosos (Weiser, 2024), como ocorre nas espécies deste estudo, variando principalmente na abundância e distribuição dos grânulos pelo citoplasma.

Animais silvestres, com destaque aos cervídeos, são seres de comportamento elusivo, com ativação extremamente rápida do sistema nervoso simpático, expressando a resposta da “luta e fuga”, que os predispõe à Síndrome da Miopatia de Captura (SMC), que em sua grande maioria das vezes é fatal (Duarte & González, 2010). No presente estudo, todos os animais estão sob cuidados humanos, hígidos e condicionados ao manejo, cujo níveis de cortisol são monitorados por meio das fezes. Assim, os dados obtidos expressam resultados de indivíduos sadios e não estressados. Dessa forma o estudo se torna uma ferramenta de monitoramento para fins comparativos do que seria o ideal quando se possui um animal neste cenário e busca-se reduzir o estresse e a melhora do quadro de saúde (Sánchez-Sarmiento *et al.*, 2014; Weiser, 2024).

Em relação ao tamanho das células, Cavalier-Smith (1978) expõe que o tamanho das células entre as espécies varia por diversos fatores, mas principalmente pela história evolutiva de cada espécie, o que pode justificar a

diferença dentro da diversidade dos cervídeos, pois cada espécie ocupa um nicho ecológico específico, evoluindo independentemente em diversos ambientes, sendo moldados pela evolução a terem a capacidade de suprir as suas necessidades orgânicas, podendo estas adaptações estarem refletidas no tamanho e morfologia celular.

CONCLUSÃO

Conclui-se que, neste estudo, as espécies estudadas possuem diferenças significativas em relação ao tamanho celular e/ou a sua morfometria, indicando que ao analisar o sangue de qualquer indivíduo de uma destas espécies, a abordagem analítica qualitativa deve ser com base na própria espécie, e não em uma espécie diferente. Essa descrição permite destacar a diferença entre indivíduos saudáveis das espécies estudadas, fornecendo uma base de dados hematológicos aos médicos veterinários da área de animais selvagens e da patologia clínica ao realizarem hemogramas desses animais. Ao saber o que é esperado como normalidade em cada espécie, se torna mais difícil a ocorrência de erros analíticos, fazendo com que seja mais efetiva a conservação destas espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A. K.; Lichtman, A. H.; Pillai, S. **Imunologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro - RJ: Grupo GEN, 2023.

Azevedo, N. A.; Oliveira, M. L.; Duarte, J. M. B. **Guia Ilustrado dos Cervídeos Brasileiros. Sociedade Brasileira de Mastozoologia**. Rio de Janeiro, 2021.

Barros, E. A. T. R. *et al.* Análise Comparativa, descritiva e morfométrica das células sanguíneas de felinos selvagens e domésticos. **Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, Botucatu, São Paulo. 2024.

Barthold, S. W.; Griffey, S. M.; Percy, D. H. **Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits**, 2016.

Black-Decima, P.A.; Vogliotti, A. 2016. *Mazama gouazoubira*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2016.

Borelli, P. **Fundamentos de hematologia: Teoria & Prática**. Blucher, São Paulo. 2024.

Castro, H. C.; Ferreira, B. L. A.; Nagashima, T.; *et al.* Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. **Bras Patol Med Lab.** v.42, n. 5, p. 321-332. 2014.

Cavalier-Smith, T. Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. **J Cell Sci.** December 1978; 34 (1): 247-278.

Chamut, S.; Yapur, J.; Black-Decima, P. Sickling, cytomorphology and blood parameters in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira* Fischer, 1814). **Springer Nature.** 2013. 23:1007-1012.

Claver, J. A.; Quaglia, A. I. E. Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. **Journal of Exotic Pet Medicine** 18(2), pp. 87-97, 2009.

Chen, L.; Qiu, Q.; Jiang, Y.; *et al.* Large-scale ruminant genome sequencing provides insights into their Evolution and distinct traits. **Science.** 2019.DOI:10.1126/science.aav6202

Cros, J.; Cagnard, N.; Woollard, K.; *et al.* Human CD14dim Monocytes Patrol and Sense Nucleic Acids and Viruses via TLR7 and TLR8 Receptors. **Immunity,** 2010.

Cubas, Z. S.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária - 2 Vol.** Rio de Janeiro - RJ, Grupo GEN, 2014.

Dalanhol, M.; Barros, M.; Mazuchelli, J.; *et al.* Efeitos quantitativos da estocagem de sangue periférico nas determinações do hemograma automatizado. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia,** P. 29-35, 2009.

Donoso-Morales, J. A.; Vacari, G. Q.; Bernegossi, A. M.; *et. al.* Revalidation of *Passalites Gloger*, 1841 for the Amazon brown brocket deer *P. nemorivagus* (Cuvier, 1817) (Mammalia, Artiodactyla, Cervidae). **ZooKeys** 1167: 241 – 264, 2023.

Duarte, J. M. B. **Guia de identificação de cervídeos brasileiros.** Jaboticabal: Funep, 1996. 14p.

Duarte, J. M. B. Capítulo 51 - Artiodactyla – Cervidae (Veados e Cervos) Cubas, Z. S.; Silva, J. C. R.; Catão-Dias, J. L. **Tratado de Animais Selvagens-Medicina Veterinária - 2 Vol.** Rio de Janeiro - RJ, Grupo GEN, 2014. p. 1085 - 1107.

Duarte, J. M. B. & González, S. **Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer.** Jaboticabal – SP, Funep., 2010

Duarte, J. M. B.; Vogliotti, A. *Mazama americana*. **The IUCN Red List of Threatened Species,** 2016: e.T29619A22154827.

Duarte, J. M. B.; Varela, D.; Piovezan, U.; Beccaceci, M. D.; Garcia, J. E. *Blastocerus dichotomus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2016: e.T2828A22160916.

Duarte, J. M. B. et. al. Resurrection of the genus *Subulo* (Smith, 1827) for the gray brocket deer, with designation of a neotype. **Journal of Mammalogy**. Cary: Oxford Univ Press Inc, 15 p., 2022.

Espinoza, V. E.; Emmady, P. D. Histology, Monocytes. In: **StatPearls, National Library of Medicine**, 2023.

Failace, R. **Hemograma**. Porto Alegre: Grupo A, 2015.

Gallina, S.; Lopez A. H. 2016. *Odocoileus virginianus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2016: e.T42394A22162580.

Geissmann, F.; Manz M. G.; Jung, S.; Sieweke, M. H.; Merad. M.; Ley, K. Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells. **Science**, 2010.

González, F. H. D. & Silva, S. C.; **Patologia Clínica Veterinária: Texto Introductório**, Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 342p. 2008.

González, S.; Jackson, III, J. J.; Merino, M. L. *Ozotoceros bezoarticus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2016.

Gulliver, G. Observations on the blood corpuscles or red discs of the mammiferous animals. **Philos Mag**. 1840. 17:325–331.

Hoffbrand, A. V. & Moss, P. H. **Fundamentos em Hematologia de Hoffbrand**, Artmed, Porto Alegre, 7 ed. 2018

IUCN. 2022. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2022-2. <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on 17/10/2023.

Junqueira, L. C. U.; Carneiro, J. **Histologia Básica - Texto e Atlas**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017.

Kitchen, H.; Putnam, F. W.; Taylor, W. J. Hemoglobin polymorphism: its relation to sickling of erythrocytes in white-tailed deer. **Sci**. 1964. 144:1237–1239

Larsson N. M. et al. Hematologic parameters of captive lions (*Panthera leo*) and siberian tigers (*Panthera tigris altaica*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1, p. 1-6, 2015.

Meinkoth, J. Capítulo 17 – Distúrbios da Hemostasia. Thrall, M. A.; Weiser G.; Allison R. W.; Campbell T. W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 3ª Ed. Editora Roca. 2024. p. 176 - 192.

Mendes, S. C. M. Indicadores de Parasitose Interna no Hemograma de Aves Selvagens. Universidade de Lisboa, Portugal. **ProQuest Dissertations Publishing**, 2018.

Nagasawa, T.; Nakayasu, C.; Rieger, A. M.; *et al.* Phagocytosis by thrombocytes is a conserved innate immune mechanism in lower vertebrates. **Frontiers in Immunology**. v. 5, 2014.

Peres, P. H. F.; Luduvério, D. J.; Bernegossi, A. M.; *et al.* Revalidation of *Mazama rufa* (Illiger 1815) (Artiodactyla: Cervidae) as a Distinct Species out of the Complex *Mazama americana* (Erxleben 1777). **Evolutionary and Population Genetics: Frontiers in Genetics**. v. 12, 2021.

Piratelli, A. J.; Francisco, M. R. **Conservação da biodiversidade: dos conceitos às ações**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2013.

Ryser-Degiorgis, M-P. Wildlife health investigations: needs, challenges and recommendations. **BMC Veterinary Research**, 9, n223, 2013.

Sánchez-Sarmiento, A. M.; Zwarg, T.; Fernandes-Santos, R. C.; *et al.* Hematological parameters and the variations resulting from stress of *Alouatta caraya* during a wildlife rescue program in Brazil. **American Journal of Primatology**, v. 77, n3, p. 246-253. 2014.

Silva, M. N. Hematologia veterinária. Belém: **EditAEDi**, 2017. ISBN: 978-85-65054-52-2

Taylor, W. J. Sickled red cells in the Cervidae. **Adv Vet Sci Comp Med**. 1983. 27:77–98

Thrall, M. A.; Weiser G.; Allison R. W.; Campbell T. W. **Hematologia, Citologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 3ª Ed. Editora Roca. 2024.

Weiser, G. Capítulo 11 – Introdução aos Leucócitos e ao Leucograma. Thrall, M. A.; Weiser, G.; Robin W. A.; *et al.* **Hematologia, Citologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2024. ISBN: 9788527740418. p. 123 - 126.

Weiser, G. Capítulo 13 – Interpretação da Resposta Leucocitária na Doença. Thrall, M. A.; Weiser, G.; Robin W. A.; *et al.* **Hematologia, Citologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2024. ISBN: 9788527740418. p. 130 - 140.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada Análise Comparativa, Descritiva e Morfométrica das Células Sanguíneas de Cervídeos Neotropicais, registrada com o nº 000.083, sob a responsabilidade de Eduardo Augusto Terra Rossi de Barros e do(a) Prof(a). Dr(a) Paulo Fernandes Marcusso - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em reunião de 01/07/2024.

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	03/07/2024 a 01/05/2025
Espécie/linhagem/raça	Espécies silvestre brasileira (Cervídeos)
Número de animais	9
Sexo	Macho; Fêmea
Origem	Externos

A handwritten signature in blue ink, reading "Fábio Sossai Possebon". The signature is fluid and cursive, with the first name "Fábio" being the most prominent.

Fábio Sossai Possebon
Presidente da CEUA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Botucatu

