

Caracterización morfológica y valores de células blancas en sangre de la rana *Osteopilus septentrionalis*

Morphological characterization and values of white cells in the blood of the *Osteopilus septentrionalis* frog

Téc. Yoesnay Saíz Guerra, Téc. José Trujillo Hernández, Dra. Juana María Castañeda León, MSc. Yordanka Domínguez Linares, MSc. Esperanza Lóriga Loaces

Centro Nacional de Toxicología (CENATOX). La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: en ocasiones las concentraciones de contaminantes presentes en los organismos no son capaces de provocar una respuesta tóxica significativa, entonces resulta necesario contar con métodos más sensibles que permitan detectar alteraciones a nivel celular o molecular antes de manifestarse clínicamente el daño en el organismo; en este sentido la determinación de los valores hematológicos se convierte en una herramienta importante. Los glóbulos blancos cumplen funciones defensivas en el organismo, su concentración en sangre depende de varios factores incluyendo la especie.

Objetivo: realizar la caracterización morfológica de las células blancas y determinar valores leucocitarios de la especie *Osteopilus septentrionalis*.

Métodos: a cien larvas de ranas que se encontraban entre los estadíos E-21 y E-33 según clasificación de Gosner (1960), se les extrajo la sangre por punción cardíaca y se realizaron extendidos, tiñéndose por el método May-Grunwald-Giemsa. Se analizaron los valores de glóbulos blancos contando cien células por larva.

Resultados: se caracterizaron y cuantificaron los leucocitos de la larva de rana *O. septentrionalis*. Se identificaron neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

Conclusiones: este estudio permitió el conocimiento morfológico de las células

blancas, así como su cuantificación en la especie de la rana cubana *O. septentrionalis*. Aunque estos resultados están solo circunscritos al área de cría del Centro Nacional de Toxicología, tienen la importancia de ser los primeros que se conocen, lo que propicia una valiosa herramienta para el diagnóstico preciso en estudios ecotoxicológicos.

Palabras clave: *Osteopilus septentrionalis*, leucocitos.

ABSTRACT

Introduction: sometimes the levels of contaminants found in the organisms do not induce a significant toxic response that is why; more sensitive methods are needed so as to detect alterations at cellular or molecular levels before such clinical damage is evidenced in the organism. Hence, the determination of haematological values is an useful tool. White cells perform defensive functions within the body; their concentration in blood depends on various factors including the specie.

Objective: to carry out the morphological characterization of white cells and to determine the leukocyte values of the *Osteopilus septentrionalis* specie.

Methods: blood extraction was performed by cardiac puncture to 100 larvaes of frogs in the E-21 and E-33 stages of Gosner classification (1960). Spreadings were made and the slides were dyed by May-Giemsa procedure. White cells were analyzed and 100 cells were counted by larva.

Results: the leukocytes of the anurous larva *O. septentrionalis* were analyzed and quantified. Neutrophils, lymphocytes, monocytes, eusinophilos and basophiles were identified.

Conclusions: this study revealed the morphological knowledge of white cells, and also allowed the their quantification in the Cuban frog specie *O. septentrionalis*. Although these results are only limited to the breeding area of the National Center of Toxicology they have the significance of being the first to be known, thus becoming an important tool for the precise diagnosis in ecotoxicological research.

Key words: *Osteopilus septentrionalis*, leukocytes.

INTRODUCCIÓN

De los tres órdenes vivientes de anfibios, solo uno, Anura, está representado en Cuba; las especies que lo componen son comúnmente conocidas como ranas y sapos.¹ Entre las familias que habitan en Cuba, Hylidae está representada solo por la especie *Osteopilus septentrionalis*, conocida comúnmente como rana platanera. Esta exclusividad taxonómica le confiere un gran valor ecológico, lo que unido a que desarrolla su ciclo de vida en los ecosistemas acuático y terrestre, su distribución por todo el territorio nacional habitando áreas urbanas como rurales, además de su alta sensibilidad a los efectos de los xenobióticos, le conceden su condición de bioindicador de la salud ambiental.

Aunque la biología de las ranas y sapos es conocida, sigue siendo objeto de estudio, ya que el conocimiento en cada especie de aspectos específicos como los hematológicos, son de importancia en la evaluación del impacto de los xenobióticos sobre el ecosistema; lo cual aporta criterio de daño a partir del comportamiento de los valores y características morfológicas de la serie blanca, los que no han sido reportados aún en la especie *O. septentrionalis*.

El objetivo de este trabajo consistió en caracterizar y cuantificar las células blancas en la especie de rana *O. septentrionalis*.

MÉTODOS

Se utilizaron 100 larvas de la especie de rana *O. septentrionalis* comprendidas entre los estadios de desarrollo 21 y 33, según la clasificación de Gosner (1960).² Las larvas fueron colectadas en los tanques de cría del Laboratorio de la Vicedirección de Estudios Toxicológicos y Medioambientales del Centro Nacional de Toxicología de Cuba (CENATOX). Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción cardíaca, utilizando jeringuillas plásticas de 1,0 mL, con la ayuda de un estereoscopio. De esta forma se obtuvo la gota necesaria para los extendidos.^{3,4} Luego de realizada la extracción de sangre, las larvas fueron regresadas a su estanque de cría.

Para la identificación y conteo de la serie blanca se tiñeron las láminas por el método May Grünwald-Giemsa;^{5,6} se clasificaron según la morfología de las células y se contaron una muestra por animal y 100 leucocitos por láminas. El procesamiento de los datos estadísticos se realizó por el método de Microsoft Office Excel 2003.

RESULTADOS

Se caracterizaron y cuantificaron los leucocitos de la larva de rana *Osteopilus septentrionalis*. Se identificaron neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

Neutrófilos: células de tamaño medio predominantemente redondeadas; el citoplasma es abundante y posee finas granulaciones; núcleo redondeado y excéntrico, que puede adoptar forma uniforme o bilobulada ([Fig. 1](#)).

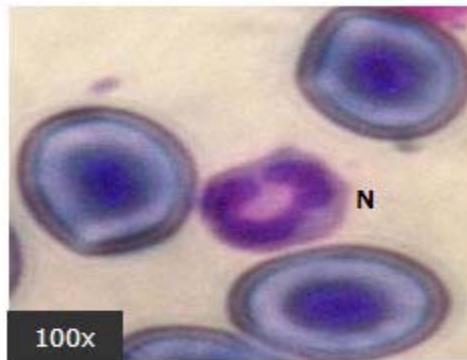


Fig. 1. Neutrófilo (N).

Linfocitos: células de tamaño variable, presentan un núcleo redondeado u oval, compacto con bordes irregulares, se tiñe de azul intenso o violeta; el citoplasma es escaso ([Fig. 2](#)).

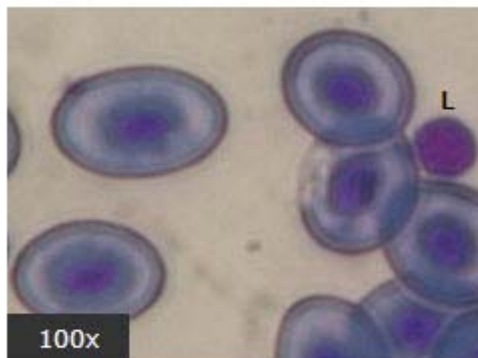


Fig. 2. Linfocito (L).

Monocitos: células grandes, ocasionalmente redondeadas o con cierto grado de polimorfismo. El núcleo es grande y excéntrico, en forma irregular o ameboide. El citoplasma puede ser abundante de color violeta claro y algo irregular ([Fig. 3](#)).

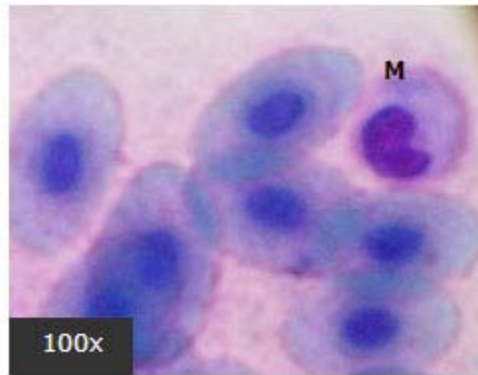


Fig. 3. Monocito (M).

Eosinófilos: células de granulaciones variables. El núcleo puede estar parcialmente oculto por los gránulos. Citoplasma de color rosado pálido ([Fig. 4](#)).

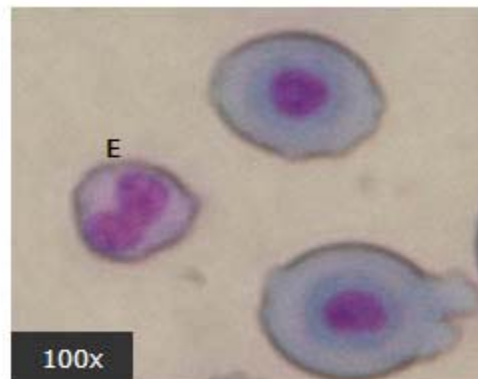


Fig. 4. Eosinófilo (E).

Basófilos: células granuladas con abundante citoplasma, de coloración azul claro, núcleo excéntrico con varias granulaciones ([Fig. 5](#)).

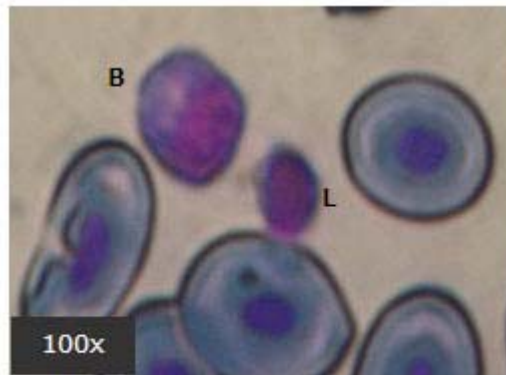


Fig. 5. Basófilo (B).

En la [figura 6](#) se muestra el número de cada una de las células de la serie blanca, los de mayor valor resultaron los neutrófilos y los linfocitos.

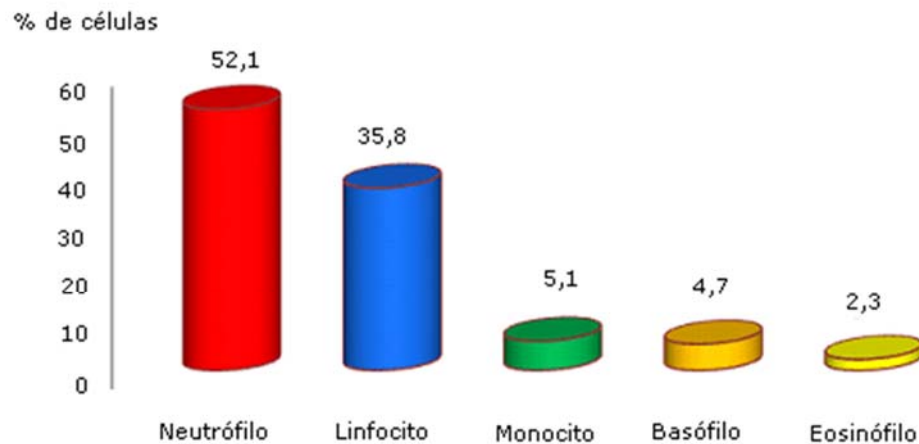


Fig. 6. Valores promedio de la serie blanca en larvas de rana de la especie *O. septentrionalis*.

En la [tabla](#) se puede apreciar la similitud en los valores de los leucocitos entre las especies *O. septentrionalis* y *Rana catesbeiana*.

DISCUSIÓN

El estudio de caracterización de las células blancas en la especie *O. septentrionalis* mostró similitudes con las descripciones de células de otros anuros como el caso de la *Rana catesbeiana*.⁵

La caracterización de los leucocitos en las larvas de *O. septentrionalis*, se realizó basada en una descripción similar a la de los mamíferos y a la del pez *Rhamdia quelen*, según Zinkl,⁷ las cuales son semejantes.

Muchos autores encuentran dificultad en la diferenciación morfológica entre linfocitos, trombocitos y células inmaduras que hay en la sangre periférica.

Los valores promedio de la serie blanca de la larva *O. septentrionalis* ([tabla](#)), son semejantes en cuanto al porcentaje informado por Fioranelli⁵ para la *Rana catesbeiana*.

En las muestras de sangre observadas de *O. septentrionalis* se identificaron los monocitos, célula que no fue descrita por Coffin⁸ para las ranas. Por su parte, Fioranelli⁵ informa el número de monocitos en *Rana catesbeiana*; en los resultados de este trabajo, los valores de los monocitos y basófilos de la *O. septentrionalis* se encuentran ligeramente por encima de los notificados para la *Rana catesbeiana* por dicho autor.

En conclusión, este estudio permitió el inicio del conocimiento morfológico de las células blancas, así como su cuantificación en la especie de la rana cubana *O. septentrionalis*. Aunque estos resultados están solo circunscritos al área de cría del CENATOX, tienen la importancia de ser los primeros que se conocen, lo que propicia una valiosa herramienta en el diagnóstico preciso en estudios ecotoxicológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Díaz Luis M, Cádiz A. Guía taxonómica de los anfibios de Cuba. Bruselas: Abc Taxa; 2008.
- 2 Gosner KL. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. Herpetológica. 1960;16:183-190.
- 3 Martín D. Sangre y hematopoyesis. Universidad Cardenal Herrera. 2009. [citado 6 Jul 2010]. Disponible en: <http://www.uch.ceu.es/anatomiapatalogica/Asignaturas/HistologC3ADa.html>
4. Gomes Días M, García Arrollo I. Fisiología veterinaria. Universidad Autónoma de México. 2008/2009. [citado 6 May 2009]. Disponible en: <http://www.issuu.com/shadowvet/docs/45678ci/1>
5. Fioranelli SA, Coppo NB, Coppo JA. Los glóbulos blancos de *Rana catesbeiana* (Anfibia: Ranidae). Variaciones según sexo, edad, peso, crianza, alimentación y época del año. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. [citado 28 de May 2009]. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2003/comunicaciones/04-Veterinarias/V-004.pdf>
6. Cruz García LF, Pérez Torres A, Lanz Mendoza H, Zenteno Galindo E, Sierra Castillo C. Conservación evolutiva de la reacción a la tinción en las células sanguíneas de invertebrados a vertebrados por microscopia de luz. Acta Microscópica. 2007;6(1-2):168-9.

7. Zinkl JG, Cox WT, Kono CS. Morphology and cytochemistry of leucocytes and thrombocytes of six species of fish. *Comparative Clin Pathol.* 1991;1(4):187-95.

8. Coffin DL. Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. La Habana: Edición Revolucionaria; 1966. p. 169-70.

Recibido: 2 de julio de 2011.

Aprobado: 8 de agosto de 2011.

Yoesnay Saíz Guerra. Centro Nacional de Toxicología (CENATOX). Calle 114 y Avenida 31, Gaveta Postal 1404, municipio Marianao, La Habana, Cuba. Correo electrónico: josetrujillo@infomed.sld.cu; ecotox@infomed.sld.cu

Tabla. Rango de valores de la serie blanca de las especies *O. septentrionalis* y *R. catesbeiana*

Células	<i>O. septentrionalis</i>	<i>Rana catesbeiana</i> Fioranelli, ⁵ 2003
Neutrófilo	48 a 56	40 a 80
Linfocito	31 a 38	16 a 40
Monocito	4 a 6	2 a 4
Basófilo	4 a 10	2 a 4
Eosinófilo	1 a 6	4 a 8

[Regresar](#)