



## FRAGILIDAD OSMOTICA GLOBULAR EN ERITROCITOS DE *Tupinambis teguixin* (SAURIA-TEIIDAE) (\*)

Rafael L. Althaus (\*\*); Pablo A. Tardivo (\*\*); Juan C. Troiano (\*\*\*);  
Juan C. Tschopp (\*\*) y Guillermo Druetto (\*\*)

Departamento de Ciencias Básicas  
Carrera Veterinaria - Facultad de Agronomía y Veterinaria  
Universidad Nacional del Litoral  
R.P.L. Kreder 2805. 3080 Esperanza (Santa Fe, Argentina).  
Fax.: 54 - 496 - 22733

RESUMEN. Se ha estudiado la fragilidad osmótica globular de 28 *Tupinambis teguixin*. La resistencia globular mínima obtenida fue de 57,5%, la máxima promedio fue de 20%, mientras que la media fue de 46%. Se informan los valores medios y desvíos estándar obtenidos, así como también los valores derivados. Se construyeron las curvas acumulativas y derivativas.

ABSTRACT. Osmotic globular fragility of *Tupinambis teguixin* erythrocytes (Sauria - Teiidae).

Osmotic globular fragility of 28 *Tupinambis teguixin* was studied. The minimum obtained globular resistance was 60%, the maximum was 20%, and the medium was 46%. Medium values and standard deviation of the osmotic fragility are informed together with derived values. Accumulative and derivative curves were determined.

- \* Trabajo presentado al II Congreso Argentino de Herpetología. La Plata; 11 - 14 - XI - 92.
- \*\* Cátedra de Física Biológica . Dep. Ciencias Básicas. Facultad de Agronomía y Veterinaria (U.N.L.)
- \*\*\* Servicio de Especies no Tradicionales. Hospital de la Escuela de Medicina Veterinaria. Departamento de Medicina. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A. Chorroarín 280. 1427 Buenos Aires.

## INTRODUCCION

La determinación de la fragilidad osmótica en células *in vitro* se realiza a los efectos de correlacionar con el comportamiento *in vivo*. Cuando los eritrocitos son colocados en un medio hipotónico se deforman, de modo tal, que si la concentración del medio exterior disminuye tiene lugar la hemólisis.

Este proceso se lleva a cabo debido a la alteración que sufre la membrana celular, específicamente a nivel de los poros, permitiendo el ingreso de agua y electrolitos y la consiguiente pérdida de hemoglobina al medio exterior.

La resistencia mínima es aquella concentración en la cual se detecta una leve hemólisis, mientras que la resistencia máxima es aquella en la que se produce la ruptura total. La fragilidad corpuscular media (F.C.M.) es el valor de concentración en el cual se hemoliza el 50% de los hematíes.

El presente trabajo persigue como propósito determinar los valores de la resistencia globular máxima, mínima y media del *T. teguixin*, y comparar los valores con los reportados para otros reptiles y especies animales, a los fines de extraer conclusiones desde el punto de vista de la fortaleza de su membrana para resistir medios hipotónicos.

## MATERIAL Y METODOS

**Animales:** Para el estudio de la fragilidad osmótica corpuscular, se trabajó con un grupo de 28 iguanas (*Tupinambis teguixin*) (Sauria - Teiidae), mantenidos en condiciones de semicautiverio; de diferentes edades, sexos y tallas, en el período comprendido septiembre y

noviembre de 1990. Los animales provenían de la localidad de Sa Pereira (Departamento Las Colonias, provincia de Santa Fe), ubicada a 61°22'06" W, y 31°31'22" S. El clima de la región es semihúmedo - húmedo, según la clasificación de Thouranthwaite, con precipitaciones que oscilan entre los 652 y 1272 mm anuales; se registran temperaturas medias comprendidas entre los 17 y 19°C, siendo los valores extremos de 6 y 40°C.

**Toma de Muestras:** Se extrajeron 5 ml de sangre de cada animal, por punción de la vena caudal, utilizando heparina como anticoagulante, según la técnica reportada por Troiano (1987).

**Método:** Existen varios métodos para evaluar este fenómeno; en el presente trabajo se utilizó el cuantitativo de Dacie (Bauer, 1986 ; Iovine y Selva, 1984 ; Perk *et al.*, 1964)

En una serie de 22 tubos de centrifuga se colocaron 10 ml de soluciones al 100; 90; 80; 75; 70; 65; 60; 57,5; 55; 52,5; 50; 47,5; 45; 42,5; 40; 37,5; 35; 32,5; 30; 20; 10; y 0% de una solución isotónica al 9% de NaCl, tamponado por una buffer de fosfato disódico y fosfato monosódico. Se procedió a agregar 100 microlitros de sangre heparinizada a cada tubo, y luego de homogeneizar la muestra suavemente, se centrifugó durante 5 minutos a 2500 r.p.m.

El sobrenadante se leyó a 540 nm en un espectrofotocolorímetro Metrolab. U.V. Visible, utilizando el sobrenadante de la solución que contiene 100 microlitros de sangre en 10 ml de la dilución de cloruro de sodio al 0,9% como blanco.

Se calculó el % de hemólisis con la siguiente expresión (Schalm, 1981):

D.O. de las muestras

% Hemólisis = \_\_\_\_\_ 100

[D.O. de la muestra hemolizada (0% de Cl Na)]

Se realizaron frotis sanguíneos de las 28 muestras. La coloración se realizó utilizando el método panóptico de Pappenhein (May-Gruenwald-Giemsa) según Iovine y Selva (1981), a los efectos de determinar el tamaño de los eritrocitos. Para tal fin se utilizó un ocular calibrado con una platina micrométrica (Celani *et al.*, 1984; Thienpont *et al.*, 1979; Weibel

*et al.*, 1986) determinando los valores de los diámetros mayor y menor.

**RESULTADOS**

El diámetro mayor de los eritrocitos elipsoidales del *T. teguixin* es de  $16,7 \pm 1,4$  micras, mientras que el diámetro menor es de  $8,9 \pm 1,1$ .

Cuadro 1. Valores medios, desvíos estándar y derivación de los valores medios de la fragilidad osmótica globular para distintas soluciones de NaCl, según el método de Dacie, expresados en términos de % (N = 28).

Solución Fisiológica	Valor Medio Hemólisis	Desvio estándar Hemólisis	Valor Medio Sol.Fisiol.	Derivación Hemólisis
100	0,0	0,0	95	0,0
90	0,0	0,0	85	0,0
80	0,0	0,0	78	0,0
75	0,0	0,0	73	0,0
70	0,0	0,0	68	0,0
65	0,0	0,0	63	0,3
60	0,0	0,0	59	0,56
57,5	2,9	4,5	56	1,64
55	7,0	7,8	54	1,28
52,5	10,2	10,3	51	2,52
50	16,5	15,1	49	3,64
47,5	25,6	19,3	46	6,44
45	41,7	25,3	44	4,56
42,50	53,1	26,3	41	5,08
40	65,8	24,0	39	3,88
37,5	75,5	19,8	36	3,92
35	85,3	14,0	34	2,44
32,5	91,4	9,3	31	1,72
30	95,7	4,0	25	0,27
20	98,4	2,5	15	0,16
10	100,0	0,0	5	0,0
0	100,0	0,0		

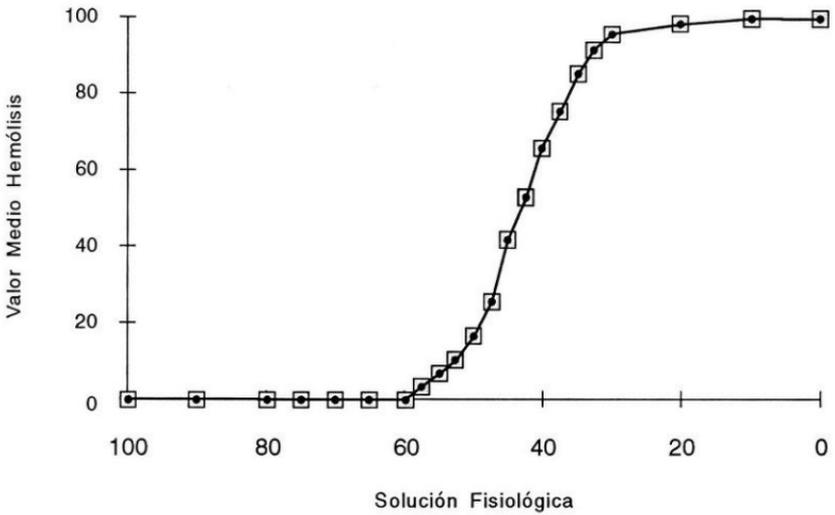


Fig. 1. Gráfica acumulativa de los valores de fragilidad osmótica eritrocitaria hallada para 28 muestras de sangre de *Tupinambis teguixin*.

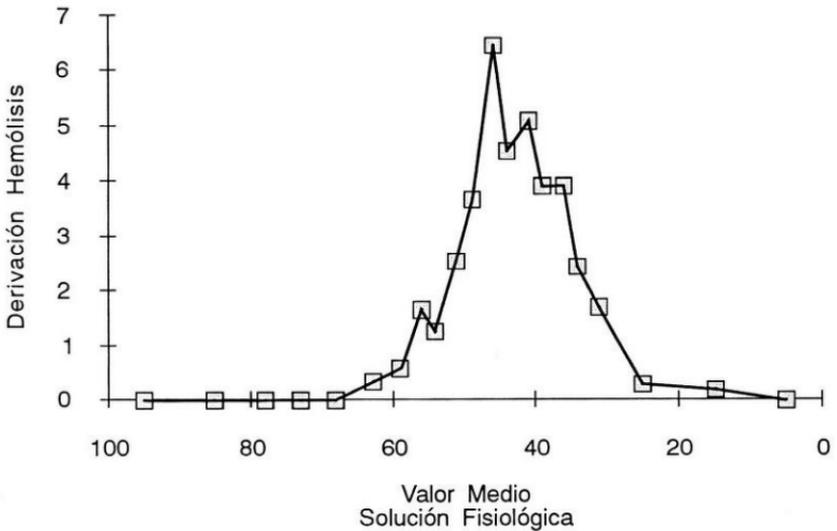


Fig. 2. Gráfica derivativa de los valores de fragilidad osmótica eritrocitaria calculada para 28 muestras de sangre de *Tupinambis teguixin*.

Cuadro 2. Valores de resistencia corpuscular máxima y mínima en animales adultos, reportados en función de los diámetros medios eritrocitarios, por distintos autores: \* Troiano *et al.*, 1993; \*\*Althaus *et al.*, 1994; Perk *et al.*, 1964.

Animal	Diámetro (Micras)	Resistencia Máxima	Resistencia Mínima	
<i>Tupinambis teguixin</i>	16,7 X 8,9	20	57,5	
<i>Caiman latirostris</i>	17,6 X 9,2	20	40	*
<i>C. c. jacare</i>	17,6 X 9,2	20	40	*
<i>Geochelone chilensis</i>	22,1 X 12,7	17,5	38,5	**
Camello	7,5 X 4,4	21	30	***
Perro	7,0	29	50	***
Cerdo	6,0	29	52	***
Rata	6,3	30	42	***
Conejo	6,7	30	50	***
Ratón	6,1	30	50	***
Cobayo	7,5	30	52	***
Hamster	6,5	30	51	***
Caballo	5,8	34	54	***
Burro	6,2	35	54	***
Gato	5,8	36	60	***
Vaca	5,8	38	59	***
Oveja	4,5	43	53	***
Cabra	3,2	44	66	***

Los valores obtenidos, así como los desvíos estándar de la prueba de la fragilidad osmótica eritrocitaria de las muestras de sangre de los 28 *T. teguixin*, se indican en el Cuadro 1. Se reportan también los valores derivados, calculados mediante el cociente entre los incrementos hemolíticos y los incrementos en las concentraciones.

Las curvas acumulativas y derivativas de la fragilidad osmótica globular, permiten calcular el valor de la resistencia globular media (Fig. 1 y 2).

La resistencia globular mínima promedio hallada es de 57,5 %, la máxima promedio es de 20%, mientras que la media obtenida por derivación gráfica de la Fig. 2 es de 46%.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Debido a la escasez de estudios acerca de la resistencia corpuscular eritrocitaria en reptiles, se han comparado los resultados hallados en algunas especies tales como *Geochelone chilensis* (Althaus

et al., 1994), *Caiman latirostris*, *Caiman c. jacaré* (Troiano et al., 1993) y otros animales domésticos y de laboratorio tales como los analizados por Perk et al. (1964) (Cuadro 2).

Si bien la morfología de los eritrocitos de los reptiles no es similar a la de los mamíferos, se observa una tendencia análoga a incrementar su resistencia corpuscular a medida que aumenta el diámetro eritrocitario. Así por ejemplo, los eritrocitos de *Geochelone chilensis* al poseer mayores valores de sus diámetros que *Tupinambis teguixin*, pueden admitir soluciones más diluidas de NaCl, antes de hemolizarse.

De igual manera, los eritrocitos más grandes de los animales domésticos y de laboratorio estudiados presentan mayor resistencia a la hemólisis.

Por otra parte, es importante destacar que los hematíes nucleados, son más resistentes a la hemólisis que los anucleados de los mamíferos.

## REFERENCIAS

Althaus, R. L., J. C. Troiano, L. M. Scaglione y M. C. Scaglione. 1994. Fragilidad osmótica globular de los eritrocitos del *Geochelone chilensis*.

R. L. Althaus; P. A. Tardivo; J. C. Troiano; J. C. Tschop; G. Druetto

sis. *Bol. Asoc. Herpetológica Argentina*, 10 (1): 22 - 25.

Bauer, J. D. 1986. Análisis Clínicos. Métodos e Interpretación. Ed. Reverte S.A. España. 1302 p.

Celani de Bassi, M. S., J. Fernández Surribas y Y. Y. Von Lawzewitsch. 1984. Lecciones de Histología Veterinaria. Tomo I. Ed. Hemisferio Sur. Argentina. 101 p.

Iovine, E. y A. A. Selva. 1981. El Laboratorio en Clínico. Ed. Med. Panamericana. 34 p.

Perk, K., Y. Frey & A. Herz. 1964. Osmotic Fragility of Red Blood Cells of Young and Mature Domestic and Laboratory Animals. *Am. J. Vet. Res.* 25: 1241 - 1242.

Schalm, O. W., N. C. Jain y E. J. Carroll. 1981. Hematología Veterinaria. Ed. Hemisferio Sur S.A. Argentina. 856 p.

Thienpont, D., Rochette, F. y O. F. J. Vanparijs. 1979. Diagnóstico de las Helminthiasis por medio del examen coprológico. *Janssen Research Foundation*. 187 p.

Troiano, J. C. 1987. Muestreo sanguíneo en reptiles autóctonos. *Actas Primeras Jornadas Nacionales de Fauna Silvestre*: 357 - 367.

Troiano, J. C., R. L. Althaus, L. M. Scaglione y M.C. Scaglione. 1993. Fragilidad Osmótica eritrocitaria en *Caimán latirostris* y *Caimán c. jacaré*. *Actas del III Congreso Latinoamericano de Herpetología*. San Pablo (Brasil): 32.

Weibel, E. R., Kistles, G. & W. Scherle: 1986. Practical Stereological Methods for Morphometric Cytology. *J. Cell Biol.* 18 : 128 - 133.

Recibido/Received/: 13 octubre 1995

Aceptado/Accepted/: 8 Julio 1996