

## Tipos celulares sanguíneos de *Podarcis bocagei* del noroeste de Portugal

Vicente Roca<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CIBIO-UP, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos. Campus Agrário de Vairão. 4485-661 Vairão. Portugal. C.e.: Vicente.roca@uv.es

<sup>2</sup> Departament de Zoologia. Facultat de Ciències Biològiques. Universitat de València. Dr. Moliner, 50. 46100 Burjassot. València, Spain.

**Fecha de aceptación:** 24 de febrero de 2013.

**Key words:** blood cells, lacertid lizards, hematology.

En los reptiles, al igual que en el resto de vertebrados, las células presentes en la sangre circulante se agrupan en eritrocitos, leucocitos y trombocitos (Mader, 2000). Los eritrocitos, trombocitos y la mayoría de los leucocitos suelen tener una morfología bastante homogénea, aunque se aprecian diferencias en heterófilos y azurófilos (Le Blanc *et al.*, 2000; Martínez-Silvestre *et al.*, 2005). En este trabajo se describe someramente cada uno de los tipos celulares encontrados en la sangre de *Podarcis bocagei* (Seoane, 1884).

En el curso de investigaciones parasitológicas de la lagartija *P. bocagei* llevados a cabo en un área del noroeste de Portugal (véase Galdón, 2007), pudimos realizar un estudio de la morfología de los diferentes tipos celulares presentes en la sangre de estos reptiles. Un total de 37 lagartijas fueron capturadas a mano en la localidad costera de Madalena, en la provincia de Douro Litoral. Una gota de sangre fue obtenida mediante fractura de la cola de cada uno de los ejemplares. Las colas se utilizaron posteriormente para análisis genéticos. La gota de sangre fue extendida inmediatamente sobre un portaobjetos, secada al aire y posteriormente teñida mediante el método de Diff-Quick o tinción combinada de Romanowski (Skipper & De Stephano, 1989).

La descripción de los tipos celulares encontrados fue la siguiente (véanse imágenes microscópicas en la Figura 1):

1-Eritrocitos: Son de forma oval o elipsooidal con núcleo oval en posición central (Figura 1a). En el citoplasma, abundante, pueden observarse vacuolas prominentes.

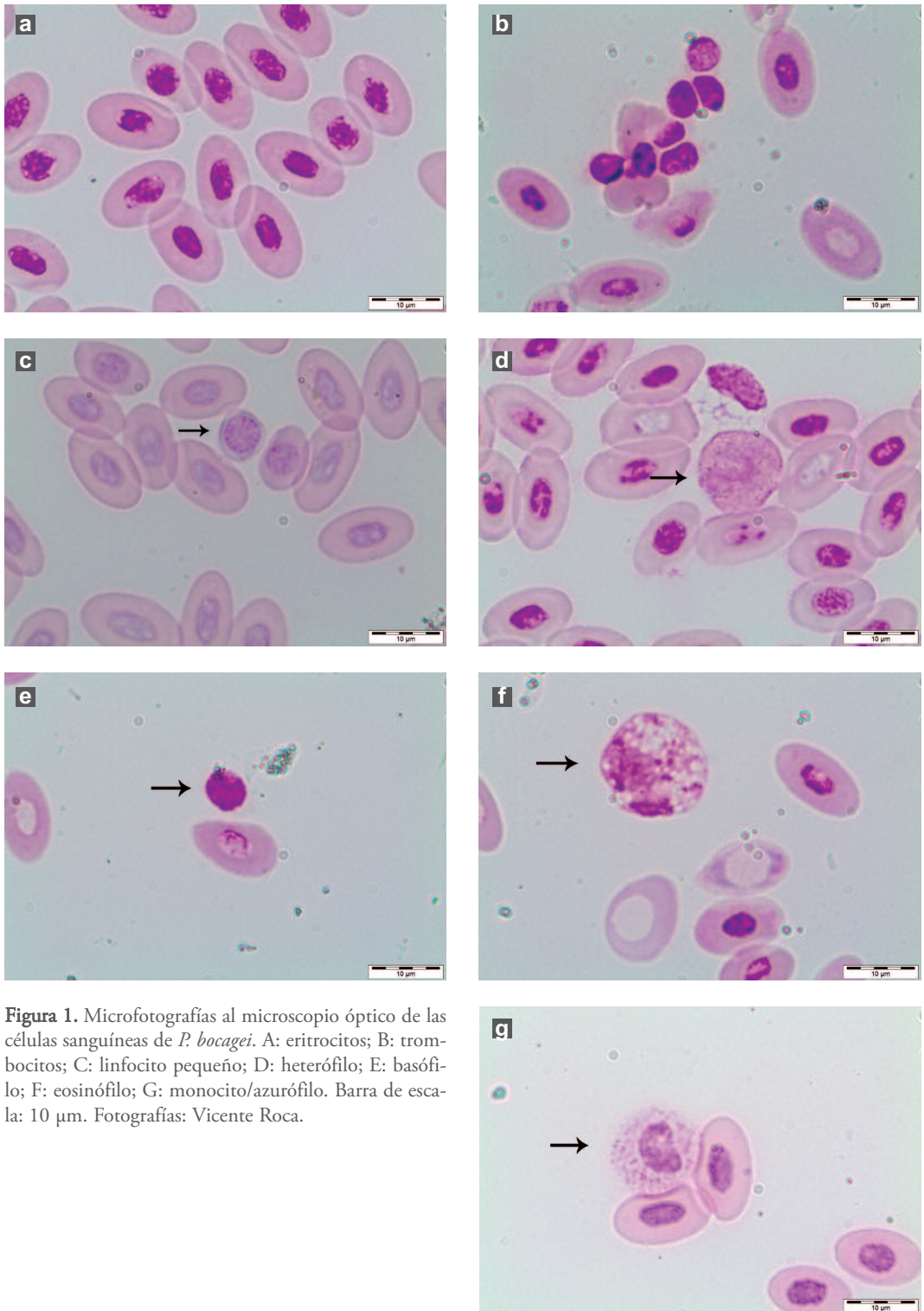
2-Trombocitos: Tienden a formar agregados (Figura 1b) y exhiben forma pseudo-elíptica o pseudo-esférica, con el núcleo redondeado y de tamaño similar al de los eritrocitos. El citoplasma es incoloro o azul grisáceo, con granulecillas y forma un halo alrededor del núcleo.

3-Leucocitos: Conviene señalar que, según los autores consultados, pueden existir algunas diferencias en cuanto a los tipos de leucocitos, por lo que a reptiles se refiere (véase Martínez-Silvestre *et al.*, 2005; Galdón, 2007; Troiano *et al.*, 2008).

3.1- Linfocitos: Tienen forma variable, desde esférica hasta irregular, y tamaño también variable, pudiendo encontrarse linfocitos grandes y pequeños (Figura 1c). Se observa un núcleo grande, de situación central o ligeramente excéntrica, y redondeado. El citoplasma es escaso y finamente granular, ligeramente teñido de azul pálido.

3.2- Azurófilos: Son células redondeadas de núcleo grande y ligeramente excéntrico. A menudo presentan inclusión citoplasmática (véase también monocitos).

3.3- Heterófilos: Son células redondas y grandes, con núcleo excéntrico de forma bilobulada (Figura 1d). Presentan gránulos eosinófilos normalmente refringentes y de naturaleza hete-



**Figura 1.** Microfotografías al microscopio óptico de las células sanguíneas de *P. bocagei*. A: eritrocitos; B: trombocitos; C: linfocito pequeño; D: heterófilo; E: basófilo; F: eosinófilo; G: monocito/azurófilo. Barra de escala: 10 µm. Fotografías: Vicente Roca.

rogénea, razón por la cual la tinción del citoplasma es muy variable dentro de este tipo celular.

3.4- Basófilos: Son células de morfología redonda u ovalada de tamaño similar al de los trombocitos. El núcleo es ligeramente excéntrico y difícil de apreciar por la presencia de gránulos citoplasmáticos grandes, redondos, muy heterogéneos, fuertemente basófilos y teñidos de violeta oscuro que ocupan la mayor parte del citoplasma (Figura 1e).

3.5- Eosinófilos: Células redondas. Su núcleo es grande, de morfología oval y localización excéntrica adyacente a la membrana celular (Figura 1f). En ocasiones llega a estar oculto por un buen número de gránulos citoplasmáticos grandes, redondos u ovals, fuertemente eosinófilos.

3.6- Monocitos: Tienen un núcleo de gran tamaño, en posición central o ligeramente excéntrica y de forma arriñonada (Figura 1g). Presentan gran cantidad de citoplasma ligeramente azurófilo, con vacuolas de tamaño y número variable. Comoquiera que en el presente estudio no se pudo llevar a cabo una tinción citoquímica pertinente para una buena diferenciación entre monocitos y azurófilos (véase Alleman *et al.*, 1999; Salakij *et al.*, 2002; Martínez-Silvestre *et al.*, 2005), se opta por contemplar la imagen g de la Figura 1 como monocito/azurófilo (véase discusión).

La descripción de estos tipos celulares representa la primera para la especie objeto de estudio, pero también una de las pocas que existen para la familia Lacertidae, tal y como señalan Martínez-Silvestre *et al.* (2002). En general, los eritrocitos, trombocitos y leucocitos observados en *P. bocagei* no difieren de los descritos por otros autores para otros reptiles (Eliman, 1997; Alleman *et al.*, 1999; Mader, 2000; Molina-PreScott *et al.*, 2001; Troiano *et al.*, 2008). Los eritrocitos exhiben la morfología habitual de todos los reptiles (Mader, 2000;

Martínez-Silvestre *et al.*, 2005; Sevinç & Ugurtas, 2008; Troiano *et al.*, 2008). En ellos, se ha descrito la presencia de posibles Virus Eritrocitarios de los Lagartos (LEV) (Roca & Galdón, 2010a) en esta población estudiada, así como en otras especies de saurios (Clark *et al.*, 2001; Jacobson, 2007), y también es habitual la parasitación de los eritrocitos por hemogregarinas (Roca & Galdón, 2010b). La morfología de los trombocitos coincide con la descrita por Martínez-Silvestre *et al.* (2005) para *Gallotia simonyi*, al igual que ocurre con la de los linfocitos cuyo número puede aumentar asociado al proceso de la muda (Molina-PreScott *et al.*, 2001), o como consecuencia de infecciones víricas (Carbonell, com. pers.). Los heterófilos son considerados por Martínez-Silvestre *et al.* (2005) los principales leucocitos en *G. simonyi*. Son activamente fagocíticos por lo que se convierten en la célula leucocítica predominante en infecciones naturales e inflamatorias (Roszkopf, 2000). También se ha observado una elevada proporción de heterófilos en saurios grávidos (Cuadrado *et al.*, 2002). Los basófilos se caracterizan por el amplio número de gránulos asociados a los márgenes del núcleo, tal y como ocurre asimismo en *G. simonyi* (Martínez-Silvestre *et al.*, 2005). Si bien no se habían identificado eosinófilos verdaderos ni en serpientes ni en algunos lagartos (Eliman, 1997), Salakij *et al.* (2002) los encontraron en número elevado en *Ophiophagus hannah* y Martínez-Silvestre *et al.* (2005) los consideran fácilmente reconocibles en *G. simonyi*. Su número varía con las especies y con los cambios estacionales (Campbell, 2004), y una elevada proporción podría indicar procesos alérgicos o estímulos parasíticos (Mader, 2000; Roszkopf, 2000). Los monocitos resultaron ser, como en el caso de otros reptiles, células poco abundantes. Un aumento de su abundancia suele indicar la existencia de enfermedades crónicas (Roszkopf, 2000). Por otro lado, aquellos leucocitos de reptiles que

tienen gran cantidad de pequeños gránulos citoplásmicos azurófilos, son frecuentemente adscritos al tipo leucocítico azurófilo. Algunos autores (Campbell, 2004; Metin *et al.*, 2006) señalan que, al ser morfológica y citoquímicamente idénticos a los monocitos, deberían ser considerados como tales, mientras que otros (Salakij *et al.*, 2002; Martínez-Silvestre *et al.*, 2005; Troiano *et al.*, 2008) abogan por la identidad propia de este tipo celular.

## REFERENCIAS

- Alleman, A.R., Jacobson, E.R. & Raskin, R.E. 1999. Morphologic, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells from eastern diamondback rattlesnakes (*Crotalus adamanteus*). *American Journal of Veterinary Research*, 60: 507-514.
- Campbell, T.W. 2004. Haematology of lower Vertebrates. 1214-1219. In: American College of Veterinary Pathologists (ACPV) & American Society of Clinical Pathology (ASVCP) (eds.), *55<sup>th</sup> Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists (ACPV) and 39<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Clinical Pathology (ASVCP)*. ACPV & ASVCP. Middleton, WI, USA.
- Clark, P. Johnstone, A.C., Elleson, R. & Gould, M. 2001. Inclusions in the erythrocytes of Eastern water dragons (*Physignathus lesueurii*). *Australian Veterinary Journal*, 79: 61-62.
- Cuadrado, M., Díaz-Paniagua, C., Quevedo, M.A., Aguilar, J.M. & Molina-Prescott, I. 2002. Hematology and clinical chemistry in dystoic and healthy post-reproductive female chamaeleons. *Journal of Wildlife Diseases*, 38: 395-401.
- Eliman, M.M. 1997. Hematology and plasma chemistry of the inland bearded dragon, *Pogona vitticeps*. *Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinary*, 7: 10-12.
- Galdón, M.A. 2007. *Estudio parasitológico de Podarcis bocagei y Podarcis carbonelli (Sauria: Lacertidae) del Noroeste de Portugal*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciències Biològiques, Universitat de València. Valencia.
- Jacobson, E.R. 2007. Viruses and viral diseases of reptiles. 395-461. In: Jacobson, E.R. (ed.), *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text*. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- LeBlanc, C.J., Heatley, J.J. & Mack, E.B. 2000. A review of the morphology of lizard leukocytes with a discussion of the clinical differentiation of bearded dragon, *Pogona vitticeps*, leukocytes. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 10: 27-30.
- Mader, D. 2000. Normal hematology of Reptiles. 1126-1132. In: Feldman, F., Zinkl, J.G. & Jain, M.C. (eds.), *Schalms' Veterinary Hematology*. Lippincott Williams & Wilkins (5<sup>th</sup> edition). Philadelphia.
- Martínez-Silvestre, A., Silva, J.L. & Silveira, L. 2002. Hematología y bioquímica sanguínea del lagarto gigante de El Hierro (*Gallotia simonyi*) en cautividad. *Revista Española de Herpetología*, 16: 5-10.
- AGRADECIMIENTOS:** Este trabajo fue financiado parcialmente por el proyecto PTDC/BIA-BDE/67678/2006 del FCT, Portugal. Los pertinentes permisos de captura de los animales fueron concedidos por el ICN de Portugal. El manejo de los animales en el laboratorio cumplió los requisitos exigidos por las normativas de Portugal y España. El autor agradece la ayuda prestada en la identificación de los tipos celulares al Dr. J.M. Ferrer, y a Dr. E. Carbonell, de la Universitat de València.
- Martínez-Silvestre, A., Marco, I., Rodríguez-Domínguez, M.A., Lavín, S. & Cuenca, R. 2005. Morphology, cytological staining, and ultrastructural characteristics of the blood cells of the giant lizard of El Hierro (*Gallotia simonyi*). *Research of Veterinary Sciences*, 78: 127-134.
- Metin, K., Türkozan, O., Kargin, F., Basimoglu-Koca, Y., Taskavak, E. & Koca, S. 2006. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European pond turtle *Emys orbicularis*. *Acta Veterinaria Brno*, 75: 49-55.
- Molina-Prescott, I., López, R., Molleda, J.M., Martín, E., Quevedo, M.A., Díaz-Paniagua, C. & Cuadrado, M. 2001. Hematología y bioquímica sanguínea en el camaleón común (*Chamaeleo chamaeleon*). 17-23. In: *Libro de Resúmenes del VII Congreso Anual de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria*. Las Palmas de Gran Canaria.
- Roca, V. & Galdón, M.A. 2010a. Presencia de virus eritrocitarios de lagartos (LEV) en *Podarcis bocagei* y *P. carbonelli* (Lacertidae) del noroeste de Portugal. *Revista Española de Herpetología*, 24, 61-66.
- Roca, V. & Galdón, M.A. 2010b. Hemogregarine blood parasites in the lizards *Podarcis bocagei* (Seoane) and *P. carbonelli* (Pérez-Mellado) (Sauria: Lacertidae) from NW Portugal. *Systematic Parasitology*, 75: 75-79.
- Roskopf, W. 2000. Disorders of Reptilian leukocytes and erythrocytes. 198-204. In: Funge, A.M. (ed.), *Avian and exotic pets*. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
- Salakij, C., Salakij, J., Apibal, S., Narkkong, N., Chanhom, L. & Rochanapat, N. 2002. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristic of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*). *Veterinary Clinics and Pathology*, 31: 116-126.
- Sevinç, M. & Ugurtas, I.H. 2008. Comparative erythrocyte size and morphology of some lacertid lizards from Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, 40: 59-60.
- Skipper, R. & De Stephano, D. 1989. A rapid stain for *Campylobacter pylori* in gastrointestinal sections using Diff-Quick. *Journal of Histotechnology*, 12: 303-304.
- Troiano, J.C., Gould, E.G. & Gould, I. 2008. Hematological reference intervals in argentine lizard *Tupinambis merianae* (Sauria-Teiidae). *Comparative Clinical Pathology*, 17: 93-97.