

Datos Hematológicos de la Víbora de Cascabel *Crotalus aquilus* del Altiplano Mexicano

Francisco Javier Alvarez Mendoza

Universidad Autónoma de Nuevo León

javieralva@hotmail.com

Elsa María Tamez Cantú

Universidad Autónoma de Nuevo León

Jesús Montemayor Leal

Universidad Autónoma de Nuevo León

montemayorleal@yahoo.com.mx

Resumen

Las especies de serpientes venenosas, como es el caso de *Crotalus aquilus*, juegan un rol importante en la naturaleza ya que sus dietas principales son mamíferos pequeños como ratas y ratones, regulando así sus poblaciones y disminuyendo los daños en las cosechas y las posibles enfermedades que se pueden transmitir al hombre. Por otro lado, el estudio hematológico en reptiles es un campo poco explorado aún reconociendo que la sangre participa en importantes funciones como la respuesta inmunológica como también en el transporte de nutrientes, gases y desechos metabólicos. Se realizaron los parámetros hematológicos como el microhematocrito (ht), Leucocrito (Lc), Proteína Total del Plasma (PTP), Hemoglobina (Hb), Globulos rojos (Gr) y Globulos blancos (Gb) en especímenes colectados en tres localidades del altiplano mexicano y en ejemplares nacidos y mantenidos en cautiverio. Adicionalmente se realizaron frotis sanguíneos de 12 de los ejemplares muestreados, los cuales fueron teñidos con hemocolorantes (Hycell) y

observados al microscopio de campo claro, determinando los tipos de células sanguíneas en base a su morfología. La comparación de las características hemáticas entre las poblaciones demostró que existe diferencia significativa solo en los valores del hematocrito, pero no en el resto de los factores evaluados. En el resto de las comparaciones, se obtuvieron valores promedio de 1.30 (Lc), 3.3 (PTP), 8.46 (Hb), 313,714 (Gr) y 20,365 (Gb) y no se observaron diferencias estadísticas significativas cuando se compararon las diferentes localidades, los sexos y los organismos silvestres contra los organismos obtenidos en cautiverio. El conocimiento sobre hematología de esta especie nos da las bases para conocer sus características y determinar su condición poblacional ya que es una especie endémica del altiplano mexicano sujeta a protección especial de acuerdo a la Norma NOM-059-SEMARNAT-2010.

Palabras clave: *Crotalus aquilus*, hematología, Leucocitos.

Introducción

Las especies de serpientes venenosas, como es el caso de *Crotalus aquilus*, juegan un rol importante en la naturaleza ya que sus dietas principales son mamíferos pequeños como ratas y ratones, regulando así sus poblaciones y disminuyendo los daños en las cosechas y las posibles enfermedades que se pueden transmitir al hombre. Así mismo, forman parte de la cadena alimenticia al ser presas de jabalíes, felinos y aves de rapiña, contribuyendo de esta forma a mantener el equilibrio ecológico de los ecosistemas, ya que actúan tanto como depredador que como presas. Adicionalmente las especies de serpientes venenosas presentan gran interés para los investigadores ya que sus venenos están siendo estudiados para la elaboración de fármacos y herramientas de diagnóstico, ya que estas

sustancias se han visto implicadas en el tratamiento de epilepsias, poliomielitis, deficiencia senil, así como reguladores de presión sanguínea, entre otras formas de utilización.

Crotalus aquilus es una especie de tamaño mediano, no más de 68 cm de longitud total. El color del fondo del dorso varía de gris a gris verdoso, amarillo verdoso o marrón rojizo. Generalmente los machos adultos presentan tonalidades verdosas o amarillentas, mientras que las hembras presentan tonalidades de marrón a gris. Un par de manchas oscuras en la nuca son seguidas por 24 a 43 manchas a lo largo de la parte media del dorso. Con frecuencia se aprecia una serie de manchas pequeñas laterales. Pueden o no presentar una franja oscura postocular. El vientre es de tonalidades amarillentas o rosadas.

Es una especie endémica de México, Su área de distribución se limita al altiplano central de México en los estados de Guanajuato, Hidalgo, México, Michoacán y San Luis Potosí. La localidad tipo es "cerca de Alvarez, San Luis Potosí, México." Su rango altitudinal oscila entre 1080 y 3110 msnm. (Lazcano, et al 2009).

Vive sobre suelos rocosos y zonas accidentadas de bosques de pino-encino y bosques de robles, prados de hierba de montaña, zonas de mezquite-pastizal pedregosos y zonas rocosas, generalmente en las cercanías de los arroyos y otros cuerpos de agua. Puede ocurrir en las fronteras de los campos de cultivo, y se ha encontrado que son abundantes en las áreas de agaves cultivados. De actividad diurna y crepuscular, se trata de un animal tranquilo y tímido. Se alimenta principalmente de lagartijas, ranas y salamandras, pequeños roedores e invertebrados como grillos y arañas. Es una especie vivípara, el tamaño de la camada va de 3 a 7 crías. Los nacimientos ocurren en los meses lluviosos, el apareamiento ocurre en abril.

El color de esta especie es café grisáceo, con parches dorsales café oscuro a lo largo del cuerpo. En la cabeza se presenta un par de manchas café oscuro en la región de la nuca, así como franjas laterales café oscuro bordeadas de blanco que inician en la región preocular y supraocular, y terminan en las escamas supralabiales. La región ventral del

cuerpo es de color crema y la zona caudal es crema con anillos café oscuro (Ramírez-Bautista et. al., 2000).

El tratarse de una especie endémica de México, hace relevante a *Crotalus aquilus*, sin embargo, el tratarse de una especie endémica únicamente de la región de la meseta central y partes de la Sierra Madre Oriental (Campbell y Lamar, 1989), hace de *Crotalus aquilus*, una especie única.

Por otro lado, el estudio hematológico en reptiles es un campo poco explorado , aún así se reconoce que la sangre es responsable de importantes funciones como la respuesta inmunológica, transporte de nutrientes, gases y desechos metabólicos para ser eliminados a través del hígado y riñón (Troiano, 2005, Alvarez, et al., 2011).

La evaluación hematológica es una herramienta importante para analizar el estado de salud de los animales y diagnosticar enfermedades (Allender et al., 2006), inclusive antes de que aparezcan los síntomas y es de gran relevancia en el acompañamiento de los tratamientos, ofreciendo datos que posibilitan al médico veterinario evaluar la respuesta terapéutica (Naves et al., 2006; Martínez-Silvestre et al., 2011).

Alves, et al. (2014) evaluaron los parámetros hematológicos de la serpiente de cascabel brasileña *Crotalus durissus terrificus* determinado el recuento de eritrocitos, hemoglobina (Hb), hematocrito, proteínas totales del plasma (TPP), volumen corpuscular medio (MCV), hemoglobina corpuscular media concentración (MCHC) y el recuento diferencial de leucocitos, en organismos silvestres (s) y en cautiverio (c). El eritrograma mostró un número significativamente mayor de eritrocitos en el grupo S y mayor MCV en el grupo C. En el leucograma, las células más frecuentes en la sangre frotis fueron los neutrófilos y azurophils, y el grupo S mostraron una disminución en los leucocitos totales, que refleja en un menor recuento de monocitos azurófilos en comparación con el grupo C.

METODOLOGÍA

Los organismos fueron colectados en tres localidades del altiplano mexicano, Mineral del Chico, Hidalgo (Mineral del Chico es un Pueblo Minero enclavado en la Sierra de Pachuca, dentro del conocido corredor de la montaña, en el Estado de Hidalgo México. Es una cabecera del municipio homónimo), Mineral del Monte, Hidalgo (Mineral del Monte es una ciudad y cabecera del municipio homónimo del estado de Hidalgo) y en el municipio de pabellón de Arteaga, Aguascalientes. Los Organismos fueron depositados en el Centro de Propagación de Especies Ponzosas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León donde se logró la reproducción en cautiverio.

Los ejemplares fueron divididos por localidad, por sexos y como silvestres o nacidos en cautiverio y se utilizaron solo las hembras que no presentaban gravidez.

El microhematocrito se realizó llenando capilares heparinizados de la mitad a $\frac{3}{4}$ partes, la sangre se tomó directamente de la jeringa con la que se había hecho la colecta, sellándose por el extremo donde se realizó el llenado se sello con Critoseal. Los capilares fueron centrifugados a 15, 000 r.p.m., por espacio de 5 minutos (Clay Adams, Div. Of Beckton, Dickenson and Company, modelo 0200, No. 113038). Utilizando un lector para Microhematocrito se realizó la determinación correspondiente (Blaxhall y Daisley, 1973).

Para determinar la proteína total del plasma, se utilizaron los capilares centrifugados para la prueba del microhematocrito, los cuales fueron seccionados, tomando solamente la porción del plasma, el cual se colocó en un refractómetro (modelo 100/B, National Instrument Company, Inc.), para determinar por gravimetría la proteína del plasma, haciendo la lectura en la escala con unidades gr/dl. (Ikeda y Ozaki, 1982).

Para medir la cantidad de Hemoglobina se utilizó un Hemoglobinometro (BMS, modelo AO) colocando una gota de sangre (0.1 ml.) en la cámara en su compartimento, observar por el ocular, deslizando el indicador de la escala hasta igualar los colores de la pantalla, se toma la lectura en la escala exterior donde se estaciona el indicador.

Para realizar el Recuento por Dilución de Eritrocitos se colocó sangre en una pipeta de Thoma para eritrocitos hasta la marca 0.5 y posteriormente se le agregó el líquido de Hayem hasta la marca del 101; haciendo una dilución 1:200; se mezcló la muestra durante 2 minutos y se desecharon las primeras 3 gotas para eliminar riesgos de que no se haya mezclado bien la solución con la sangre.

En la cámara de Neubauer se le cubrió con un cubreobjetos, después se agregó una gota de la dilución y esta se difundió por capilaridad dando así la muestra para trabajar y después se hizo el conteo de glóbulos rojos en el microscopio óptico con el objetivo seco fuerte (40x); haciendo el conteo por el método estándar.

En cuanto al Recuento por Dilución de Leucocitos, se colocó sangre en una pipeta de Thoma para leucocitos hasta la marca 0.5 y después se le agregó el líquido de Turk hasta la marca 11; haciendo así una dilución 1:20; Se mezcló la muestra durante 2 minutos y se desecharon las primeras 3 gotas para eliminar riesgos de que no se haya mezclado bien la solución con la sangre.

En la cámara de Neubauer se le cubrió con un cubreobjetos, después se agregó una gota de la dilución y esta se difundió por capilaridad dando así la muestra para trabajar y después se hizo el conteo de glóbulos blancos en el microscopio óptico con el objetivo seco fuerte (40x).

Adicionalmente se realizaron frotis sanguíneos de 12 de los ejemplares muestreados, los cuales fueron teñidos con hemocolorantes (Hycell) y observados al microscopio de campo claro, determinando los tipos de células sanguíneas en base a su morfología.

RESULTADOS

Se tomaron muestras sanguíneas de un total de 28 ejemplares, de los cuales 9 eran provenientes de las tres localidades, y el resto habían nacido en cautiverio en el Centro de Propagación de Especies Ponzosas de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Los organismos fueron divididos en grupos por localidad, sexo y silvestres o nacidos en cautiverio con la finalidad de analizar las diferencias que presentan los resultados en cada uno de los grupos, tal y como se muestran en las tablas 2, 3 y 4.

Tabla 1.- Resultados de los análisis hematológicos según la localidad.

Localidad	Ht	Leucocrit o	PTP	Hb	G. Rojos	G. Blancos
Mineral del chico Hgo	25.1	1.2	3.67	8.7	336,000	20,268
Mineral del monte Hgo	20	1	3	7.7	345,000	20,250
Pabellon de Arteaga Aguascalientes	20	1.5	2.4	8	200,000	10,210

Tabla 2.- Resultados de los análisis hematológicos según el sexo.

Localidad	Ht	Leucocrit o	PTP	Hb	G. Rojos	G. Blancos
Machos	23.7	1.19	4	8.81	331,912	19,778
Hembras	24.3	1.25	3	8.62	311,875	21,212

Tabla 3.- Resultados de los análisis hematológicos según su nacimiento.

Localidad	Ht	Leucocrit o	PTP	Hb	G. Rojos	G. Blancos
Silvestres	23.8	1.13	3.525	8.56	337,500	20,418
Cautiverio	25.8	1.25	3.737	8.843	336,000	20,362

LOCALIDAD

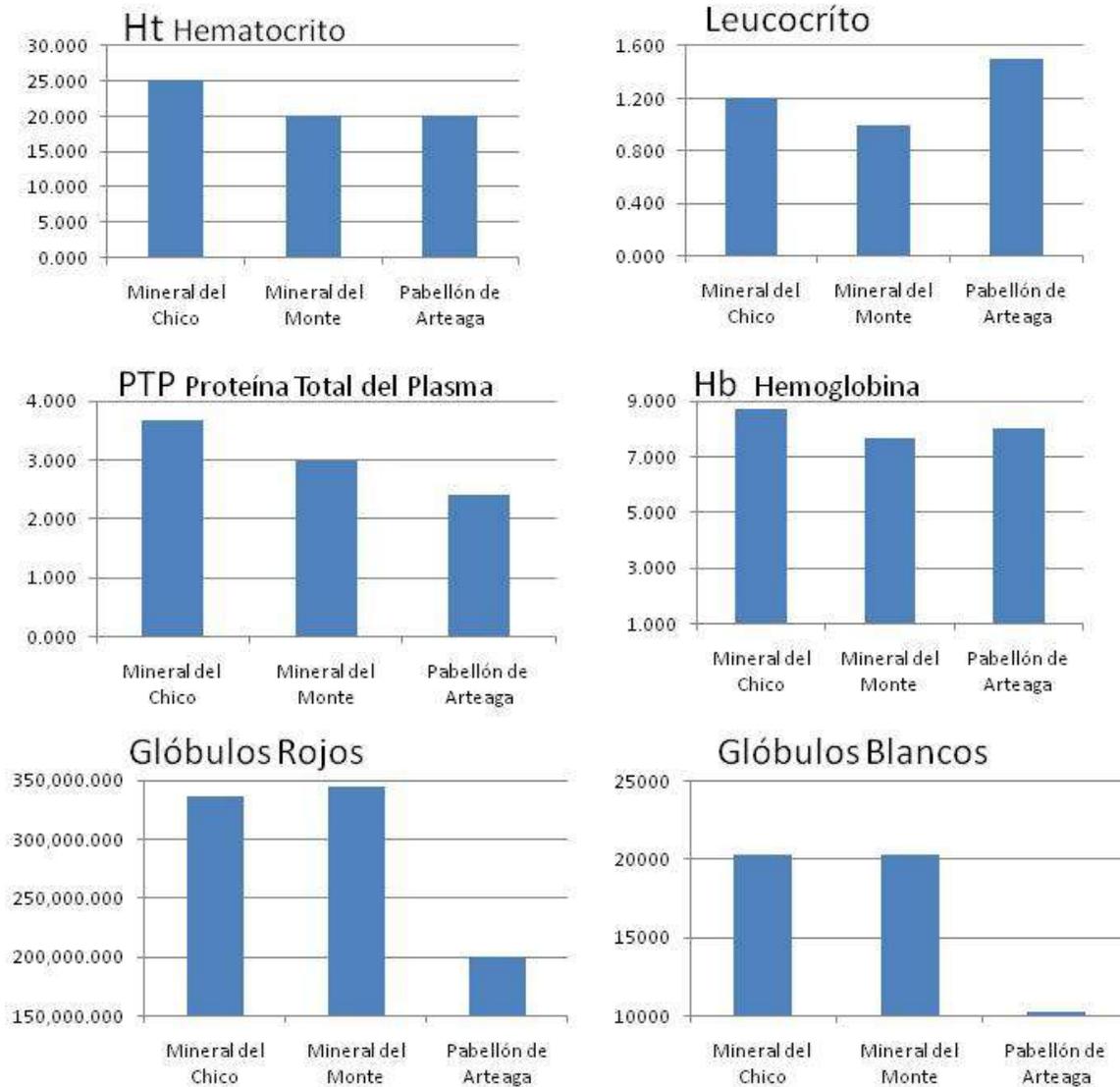


Figura 1.- Comparación de los análisis hematológicos con organismos de diferentes localidades.

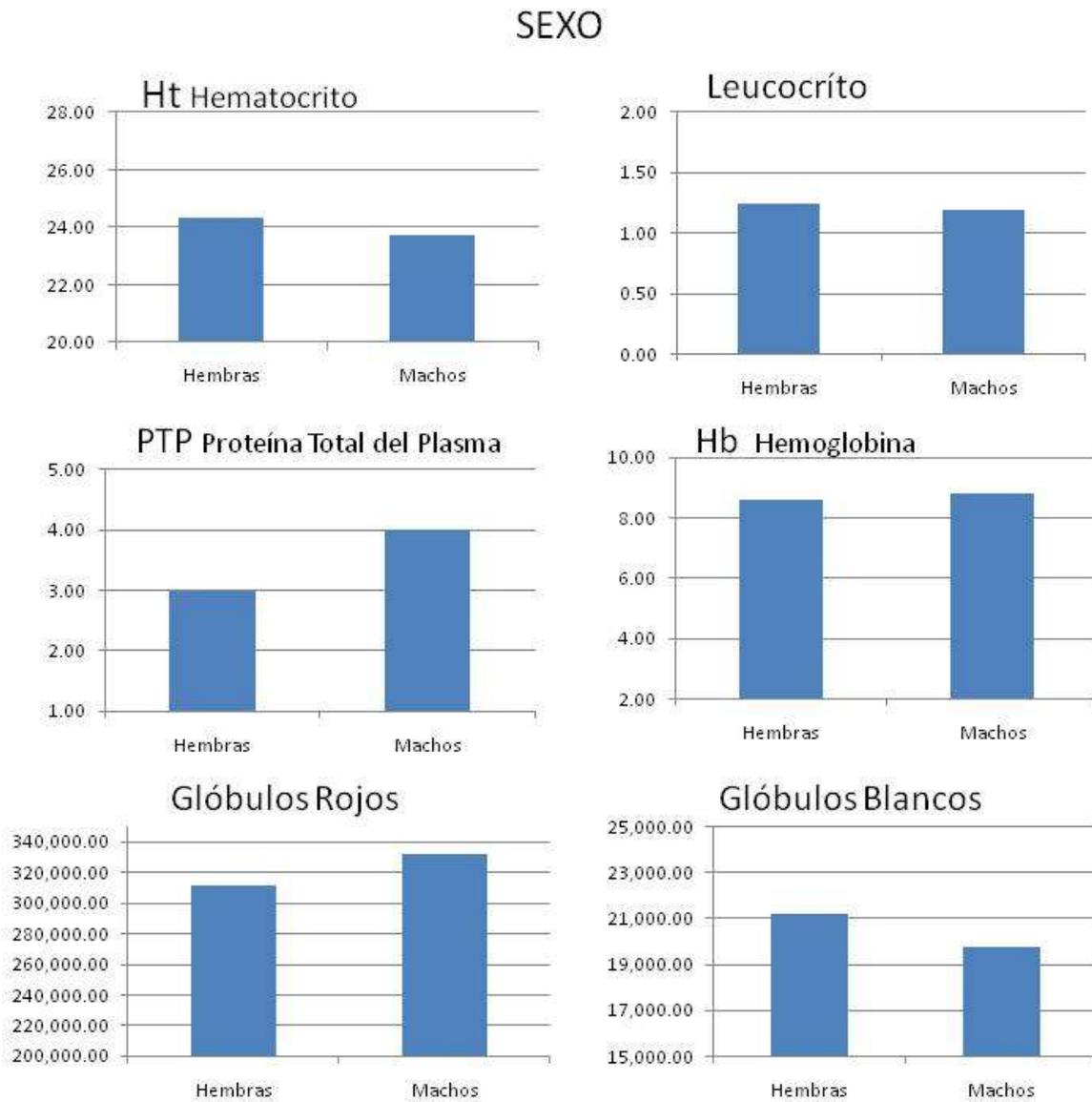


Figura 2.- Comparación de los análisis hematológicos con organismos de diferentes sexos.

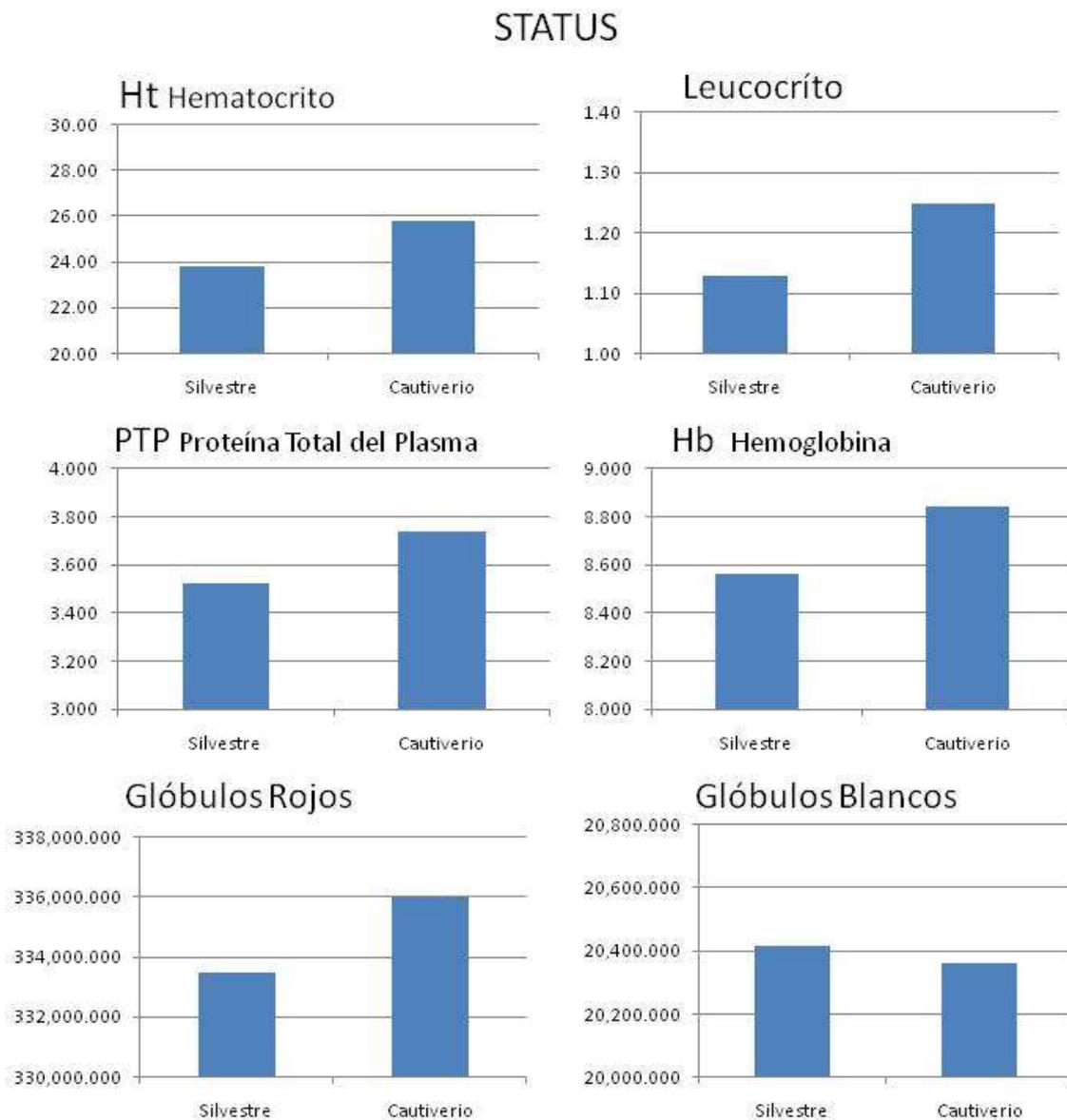


Figura 3.- Comparación de los análisis hematológicos con organismos de diferentes status.

En cuanto a la morfología de las células sanguíneas encontradas es la siguiente: eritrocitos, glóbulos blancos y trombocitos. Los eritrocitos son de forma oval con

citoplasma levemente acidofilo, el núcleo es oval, central a la célula y fuertemente basófilo como se muestra en la figura 4, con una media aproximada de 12 a 13.5 μ y en menor cantidad poiquilocitos en forma no oval.

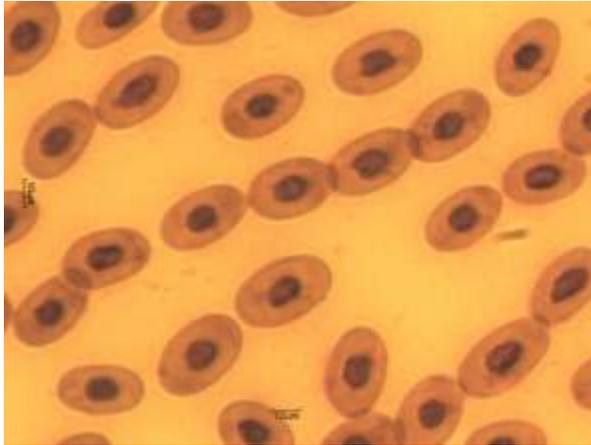


Figura 4.- Eritrocitos

Se determinaron los siguientes tipos de Leucocitos: Linfocitos, Eosinófilos, Basófilos, Neutrófilos, Metamielocitos y Monocitos, además trombocitos.

Los linfocitos presentaron un tamaño entre 9 a 13 μ su núcleo es esférico presentando una pequeña muesca y escaso citoplasma figura 5.

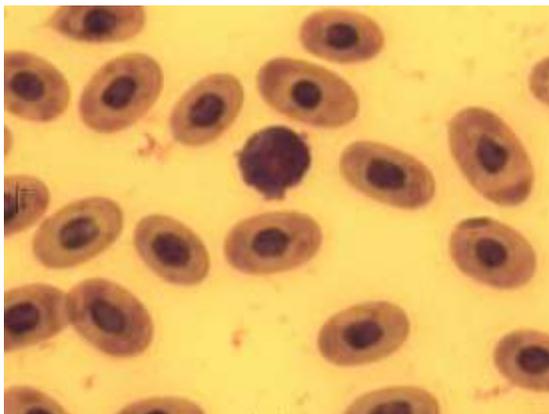


Figura 5.- Linfocitos

Eosinófilos, células esféricas de 19 a 21 μ con núcleo excéntrico, cromatina acordonada, y en el citoplasma se encuentra una gran cantidad de gránulos que se tiñen con la Eosina (Figura 6).

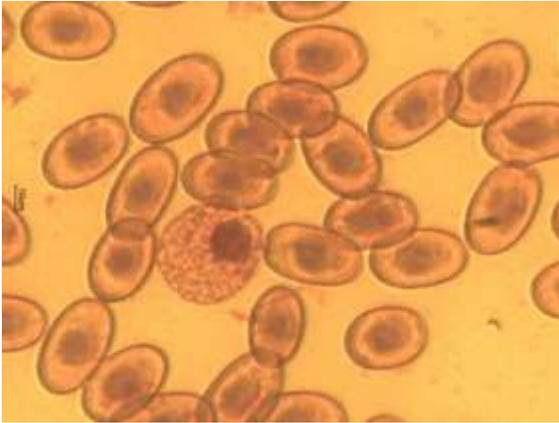


Figura 6.- Eosinófilos

Basofilos, células esféricas con gran cantidad de gránulos que se tiñen fuertemente basofilos y que incubren al núcleo , con una medida de 17 a 19 μ . (Figura 7)

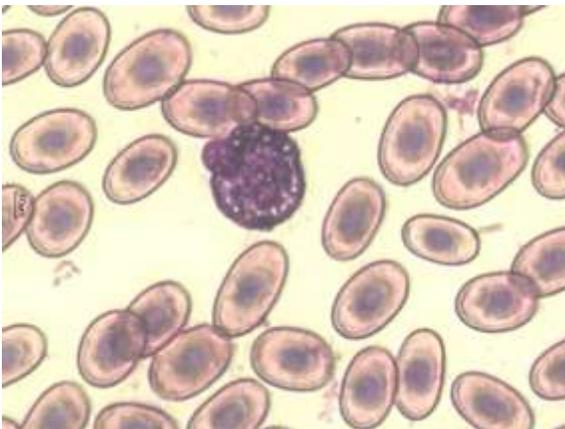


Figura 7.- Basofilos

Neutrófilos, células esféricas con núcleo presentando septos, con una medida de 15 a 17 μ . (Figura 8).

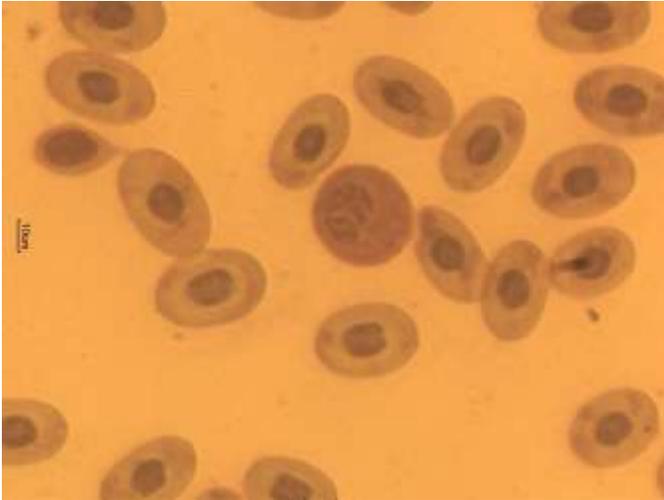


Figura 8.- Neutrófilos

Metamielocitos, células esféricas con núcleo arriñonado ocupando 2/3 del citoplasma ligeramente acidofilo. Con una medida de 9.5 a 11.5 μm (Figura 9)

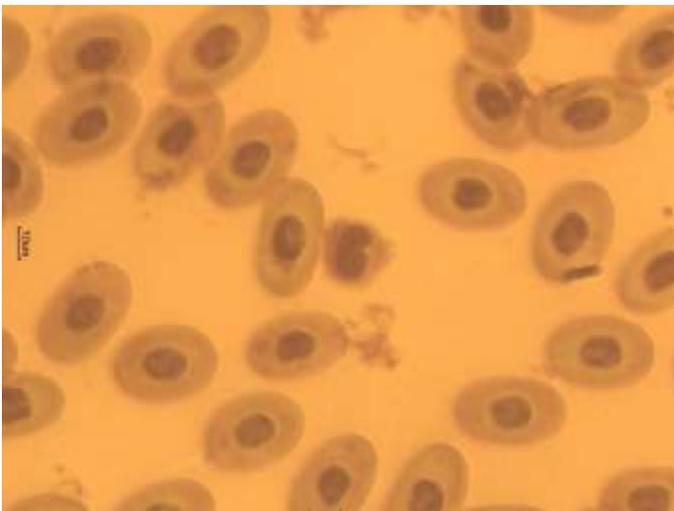


Figura 9.- Metamielocitos

Monocito, células esféricas con un núcleo central a la célula y arriñonado. Con una medida de 14 a 17 μm (Figura 10).

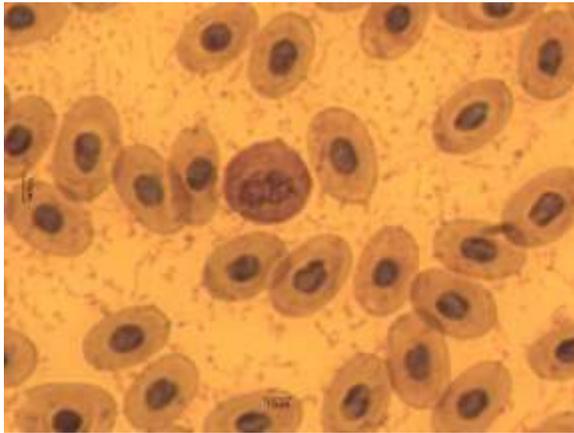


Figura 10.- Monocitos

Conclusión

La hematología de animales salvajes, todavía es un campo de trabajo científico poco explorado, siendo necesario estudios para que se pueda llegar a un nivel adecuado de comprensión de sus particularidades (Almeida et al., 2011).

Los valores hematológicos encontrados en los organismos de diferentes localidades solo variaron con relación al conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos donde la población de Pabellón de Arteaga registraba menos número de ellos con relación a las otras dos localidades analizadas, esto puede deberse a diferentes factores como el clima, temperatura corporal y estado nutricional, entre otros factores, tal y como lo menciona Reavil (1994).

Los valores hematológicos observados al comparar los organismos de diferentes sexos no presentaron diferencias significativas en ninguna de sus mediciones, determinándose que los valores son semejantes entre hembras y machos, una vez que las primeras no se

encuentren en periodo de gestación, lo cual puede cambiar considerablemente algunos factores hemáticos.

Así mismo, cuando se separaron los organismos a nivel de status (silvestres y en cautiverio) tampoco se encontraron diferencias significativas en ninguno de los factores hemáticos que fueron analizados.

Los resultados muestran que, como en otras especies, el proceso de homeostasis es un producto directo de interrelaciones complejas y dinámicas entre el huésped y el medio ambiente, y un desequilibrio, así como otros factores, influye en el hemograma de serpientes (Alves, et al, 2014).

La información del presente trabajo indica que las variables hematológicas son la resultante directa entre el reptil y el medio ambiente, influenciando directamente con una consecuente alteración en la homeóstasis del animal. Se espera que estos resultados sirvan de base para nuevos estudios sobre valores hematológicos, para lograr establecer rangos de referencia y así tener la capacidad de evaluar el estado de salud, estrés, desnutrición y otras condiciones ambientales que impacten en forma negativa a la especie.

Así mismo, al tratarse de una especie poco estudiada (Campell y Brodie Jr., 1992), además de ser una especie considerada sujeta a Protección Especial (NOM-059-SEMARNAT-2010), es recomendable aumentar el tamaño de las muestras además de la realización de estudios a lo largo de su distribución con el objetivo de conocer más acerca del status poblacional que presenta esta especie en su medio ambiente natural.

Bibliografía

- Allender, M., M. Mitchell, C. Phillips, K. Gruszynski & R. Beasley (2006) Hematology, Plasma Biochemistry, and antibodies to select Viruses in Wild-Cought Eastern Massasauga Rattlesnakes (*Sistrurus catenatus catenatus*) from Illinois. *Journal of Wildlife Diseases*, 42(1), 2006, pp. 107–114.
- Almeida, A., S. Nogueira-Filho, S. Nogueira & A. Munhoz (2011) Aspectos hematológicos de catetos (*Tayassu tajacu*) mantidos em cativeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. 173-177, 2011.
- Álvarez, J., E. Tamez, D. Lazcano, K. Sester & E. Mociño (2011) Morfología de las Células Sanguíneas y perfil Leucocitario de *Crotalus polystictus* (Cope 1865). *Revista Ciencia UANL*. Vol. XIV: 53-59.
- Alves, et al. 2014 Estudio comparativo de valores hematológicos de serpientes de cascabel (*Crotalus durissus terrificus*) de vida libre y de cautiverio. *Biotemas*, 27 (2): 109-115, junho de 2014 ISSN 2175-7925
- Blaxhall, P.C. and Daisley (1973) Routine hematological methods for use with fish blood. *J. Fish. Biol.* Vol. 5 pp: 771-781.
- Cambell, J.A. & E.D. Brodie Jr. (1992) *Biology of the Pitvipers*. The University of Texas at Arlington. Selva, Tayler, Texas. 467pp.
- Campbell, J., & W. Lamar (1989) Lance heads, genus *Bothrops wagler*, 1824. In: Csmpbell, J. & W. Lamar (Ed.). *The venomous reptiles of the western hemisphere*. New York: Cornell University Press, 2004. p. 334-409.
- Ikeda and Ozaki.1982.Application of a Protein Refractometer on Fish Blood. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 48(9), pp:41-44.

- Lazcano, D., Acosta, S., Mercado, R., Chavez, G. & Narvaez, S. (2009) Tiempo de deglución de crías de *Crotalus aquilus* (Klauber, 1952) en condiciones en cautiverio. Revista Ciencia UANL. Volumen XII: 288-294.
- Martínez-Silvestre, A.; S. Lavin & R. Cuenca (2011) Hematología y citología sanguínea en reptiles. Clínica Veterinaria de Pequeños Animales, Barcelona, v. 31, n. 3, p. 131-141, 2011.
- Naves, E., F. Ferreira, A. Mundim & E. Guimares (2006) Valores hematológicos do macaco prego (*Cebus apella*, Linnaeus, 1758) em cativeiro. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 22, n. 2, p. 125-131, 2006.
- Reavil, D. (1994) Selected Topic in Reptile Clinical Pathology. UC Davis Avian/Exotic Animal Symposium. Davis California. 1-12.
- Ramírez-Bautista, A., C. Balderas-Valdivia, and L.J. Vitt. 2000. Reproductive ecology of the whiptail lizard *Cnemidophorus lineatissimus* (Squamata: Teiidae) in a tropical dry forest. Copeia 2000:712–722.
- Troiano, J.C. (2005) Hematología en Reptiles. Reptilia: Revista especializada en Reptiles, Anfibios y Artropodos. 51:79-82.