

DEL INSTITUTO DE HISTOLOGÍA

de la

Universidad de Concepción (Chile)

Director: Prof. Dr. K. O. Henchel

## Contribuciones a la Morfología comparada de la Fauna Chilena

II. Estudios hematológicos en las especies *Liolaemus nigromaculatus*  
(Philippi) y *Liolaemus pictus* (Duméril y Bibron)

(Con 27 figuras y 4 tablas)

por

Heriberto Peña Rocha

(Recibido por la Redacción el 28-IX-39)

Estudios hematológicos se han efectuado hasta la fecha con marcada preferencia en ciertas clases de vertebrados como p. ej. en los anfibios y en los mamíferos, mientras que acerca de otras clases (ciclóstomos, peces y reptiles) existen, en la literatura, sólo escasas publicaciones que se refieren a la morfología y al cuadro cuantitativo de sus elementos corpusculares sanguíneos. Con respecto a los reptiles, la mayor parte de los trabajos que proporcionan datos acerca de la sangre de estos vertebrados, ha sido efectuada en la época en que los métodos hematológicos modernos no existían aún: Welcker (1863), Malassez (1872), Hayem (1878/9; 1889), Bethe (1891), v. Niegolewsky (1894), Günberg (1901), Meinertz (1902), Eberhardt (1907/08), Hirschfeld-Kassmann (1908), Loewenthal (1909); con métodos modernos han trabajado sólo Beyer (1921; cit. seg. Körner), Sabrazés y Muratet (1924) y Komocki (1936; 1938). Las observaciones de todos estos autores han sido realizadas sin excepción en reptiles europeos, africanos y australianos sin que jamás se haya dado la debida importancia a especies americanas.

En vista de esta circunstancia hemos creído conveniente hacer un estudio sistemático acerca de la hematología de dos especies de lagartijas autóctonas de este país, *Liolaemus nigromaculatus* (Philippi) y *Liolaemus pictus* (Duméril y Bibron). Todas las observaciones las hemos efectuado en animales recién capturados, aparentemente en buen estado de nutrición y adultos.

Si permanecían en nuestro poder durante algunas horas sin ser sacrificados, eran alimentados con insectos, especialmente con moscas y bebían al mismo tiempo el agua necesaria. Estos animales los tomaban con cierta avidez, aun en presencia nuestra, ya que casi todos se domesticaban pronta y fácilmente. Con estas precauciones creemos haber evitado en lo posible cambios substanciales sobre todo en la fórmula sanguínea, debidos a la inanición, desecación u otra causa desfavorable.

Para la extracción de sangre del animal y con el fin de verificar recuentos, determinar la cantidad de hemoglobina y de hacer frotis, hemos seguido los procedimientos que se usan generalmente en estos estudios hematológicos, o sea, sección de la punta del corazón del animal, previamente muerto con éter y extracción inmediata de la sangre de los ventrículos. Con la sangre así obtenida, podíamos hacer en un mismo animal el recuento de glóbulos, la determinación de hemoglobina y unos diez o más frotis.

Para teñir los frotis hemos empleado especialmente la coloración panóptica seg. Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa), la coloración con hematoxilina y eosina y la con azul de metileno policromo de Unna y fuxina fenicada de Ziehl seg. Pappenheim. Para determinar el número de los distintos elementos corpusculares sanguíneos hemos procedido de la misma manera que Latorre (1939).

### Eritrocitos

El diámetro longitudinal de los eritrocitos en la sangre fresca según mediciones de 1 000 ejemplares fué de 18,9  $\mu$  como término medio en la especie *L. nigromaculatus*, de 18,7  $\mu$  en la especie *L. pictus*. El diámetro transversal con un valor medio de 11,9  $\mu$  y 11,8  $\mu$  resp. tampoco ofrece diferencia apreciable entre las dos especies. Lo mismo vale para los diámetros longitudinal y transversal de los núcleos que ascienden a 7,1  $\mu$  y 3,8  $\mu$  en el *L. nigromaculatus*, a 7,2  $\mu$  y 3,75  $\mu$  en el *L. pictus* (véase Tabla N.º 1).

TABLA N.º 1

Diámetros de los eritrocitos y de sus núcleos en  $\mu$  <sup>1)</sup>

	Eritrocitos						Núcleos							
	D. longitudinal			D. transversal			D. longitudinal		D. transversal					
	n	M	D	V	M	D	V	n	M	D	V	M	D	V
<i>L. nigromaculatus</i> .	1 000	18,9	20	8-23;	11,9	11	9-14.	500	7,1	7	5-9;	3,8	4	3-5
<i>L. pictus</i>	1 000	18,7	20	8-23;	11,8	11	8-14.	500	7,2	7	5-9;	3,75	4	3-5

<sup>1)</sup> En esta tabla significa: n número de observaciones; M valor medio; D valor modal; V mínimo y máximo.

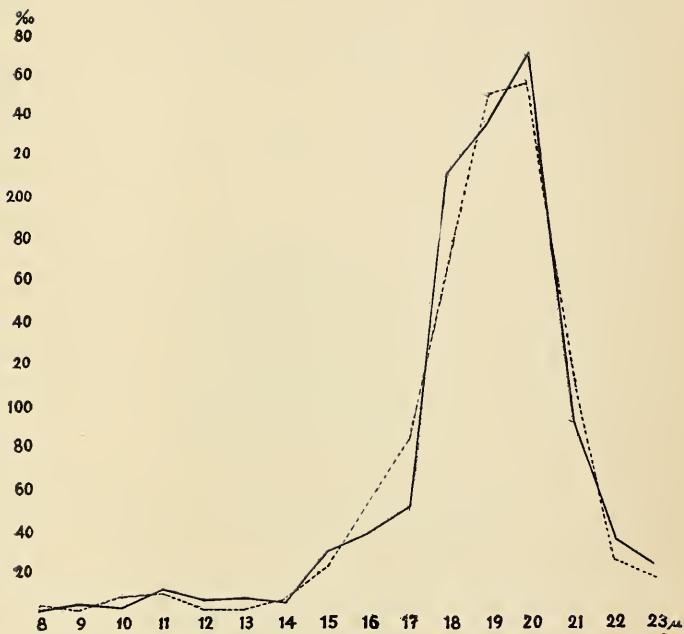


FIG. N.º 1.

Diámetro longitudinal de los eritrocitos en las especies *L. nigromaculatus* (—) y *L. pictus* (- - - - -).

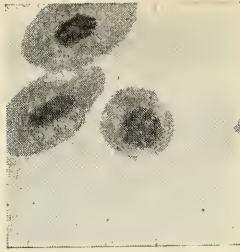


FIG. N.º 2.

Eritrocito juvenil. *L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

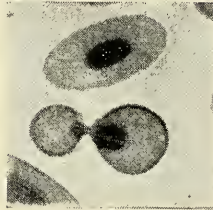


FIG. N.º 3.

Eritrocito en amitosis. *L. pictus*. Coloración con azul de metileno según Unna y fuxina de Ziehl fenicada. Aumento 1 100 veces.



FIG. N.º 4.

Eritrocito en amitosis nuclear. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

Al examinar los polígonos de frecuencia del diámetro longitudinal de los eritrocitos de las dos especies (véase Fig. N.º 1), llama la atención su distribución asimétrica, fenómeno que se observa de una manera igual en las dos especies. Este fenómeno sorprendente debe su origen a la existencia de cierto número de formas especialmente pequeñas de eritrocitos que no son otras que los glóbulos rojos juveniles y los eritrocitos enanos (véase más adelante).

Para comparar los diámetros de los eritrocitos de *L. nigromaculatus* y *L. pictus* con datos análogos constatados por varios autores en diversas especies de reptiles, hemos confeccionado una tabla con los diámetros longitudinal y transversal de los eritrocitos de esas especies (véase Tabla N.º 2). Sin embargo, no podemos decir si estos datos han sido obtenidos por el procedimiento que hemos seguido nosotros, es decir, si las mediciones fueron efectuadas en sangre fresca o en frotis.

TABLA N.º 2

Diámetros longitudinal y transversal de los eritrocitos de reptiles.

<i>L. pictus</i>	18,7 : 11,8	µ	
<i>L. nigromaculatus</i>	18,9 : 11,9	»	
<i>Lacerta agilis</i>	15,7 : 9,1	»	Hayem (cit. seg. Schulz y v. Krüger 1925).
»	»	15,9 : 9,9	» Welcker »
»	»	14-15,5 : 5,5- 7	» Alder y Huber »
» muralis	16,6 : 9,2	»	Bethe »
»	»	15,4 : 10,3	» Welcker »
»	»	12,5-14 : 5,5- 7	» Alder y Huber »
<i>Chamaeleon vulgaris</i>	20,0 : 12,0	»	Sabrazès y Muratet 1924
<i>Anguis fragilis</i>	17-18,5 : 8,5-10	»	Alder y Huber (cit. seg. Schulz y v. Krüger)
<i>Testudo graeca</i>	21,2 : 12,4	»	Hayem »
<i>Emys orbicularis</i>	15,5-18,5 : 12,5-10	»	Alder y Huber »
<i>Coluber natrix</i>	22,0 : 13,5	»	Hayem »
»	»	17,6 : 11,1	» Bethe »
» flovescens	17,7 : 11,3	»	» »
<i>Tarentola mauretanic</i>	15,5-18,5 : 10-12,5	»	Alder y Huber »

A priori debe suponerse que el modo como hayan sido efectuadas las mediciones, influye mucho en estos datos. Ahora, para formarnos un concepto acerca de las alteraciones que pueden sufrir las dimensiones de los eritrocitos de *L. nigromaculatus* p. ej., al hacer los frotis o por la acción de las mezclas de May-Grünwald y Giemsa, hemos realizado al mismo tiempo mediciones de 1 000 eritrocitos en frotis coloreados seg. Pappenheim. Se constató un diámetro longitudinal de 15,2 µ y un diámetro transversal de 9,1 µ como términos medios, mientras que estos diámetros en la sangre fresca de esta misma especie al-

canzan valores medios de 18,9 y 11,9, respectivamente. Queda de manifiesto el alto grado de retracción que sufren los corpúsculos en referencia al hacer y teñir los frotis, lo que se debe en parte a la secación y en parte a la fijación de ellos.

En tales circunstancias no nos vemos en situación de constatar, a este respecto, diferencias de mayor importancia entre las especies de *Liolaemus* y las dos especies de lagartijas europeas *Lacerta agilis* y *L. muralis* que reproducimos en la Tabla N.º 2. Los eritrocitos de los demás reptiles de la tabla tampoco ofrecen diferencias de importancia.

Sin ocuparnos de los demás caracteres morfológicos de los eritrocitos de las dos especies examinadas por tratarse de formaciones ampliamente conocidas, quisiéramos referirnos ahora a algunos tipos especiales de glóbulos rojos que se observan en los frotis.

Los glóbulos rojos juveniles (véase Fig. N.º 2) son más pequeños que los eritrocitos típicos y de contorno redondeado. Tienen un núcleo relativamente grande más o menos redondo, de estructura típica y un citoplasma de color azul pálido, borroso. No hemos podido constatar divisiones mitóticas ni en eritrocitos juveniles ni en adultos de las dos especies. Segmentaciones mitóticas se encuentran, como se sabe, regularmente en los glóbulos rojos de los anfibios, con gran frecuencia en los anuros (Latorre, 1939), pero en cantidad más reducida en los urodelos (Körner, 1938).

Al revés, hemos tenido ocasión de observar en las dos especies de *Liolaemus*, divisiones amitóticas típicas de eritrocitos en sus distintas fases (véase Fig. N.º 3 y Fig. N.º 4). En tales divisiones amitóticas tienen posiblemente su origen dos formas de eritrocitos que mencionaremos ahora.

No es raro encontrar glóbulos rojos mucho más pequeños que el término medio, redondeados. El núcleo de estos eritrocitos enanos (microcitos) es igualmente redondeado y rico en cromatina. El citoplasma ofrece color anaranjado. La relación núcleo-citoplasmática es más o menos igual a la que se observa en los eritrocitos típicos. En otras ocasiones el núcleo suele ser alargado.

Se encuentran además eritrocitos con una prolongación en uno de sus extremos, como si recientemente se hubiera desprendido de él otra porción de citoplasma. Esta prolongación citoplasmática es de terminación irregular o fina y alargada (véase Fig. N.º 5).

El núcleo de los eritrocitos es generalmente central y está orientado según el eje longitudinal de la célula. Pero hay formas en que el núcleo es excéntrico y puede encontrarse cerca de uno de sus bordes o cerca de uno de sus extremos como se ve en la Fig. N.º 6. En otros casos su eje principal puede ser oblicuo al diámetro longitudinal del eritrocito. Creemos que estas diferentes posiciones del núcleo se deben a la acción mecánica del frotis, tratándose así de formaciones artificiales (véase también Schaffer, 1921).

En una proporción de 1 por 2 000 eritrocitos nucleados hemos encontrado eritrocitos sin núcleo. Este hecho no extraña,

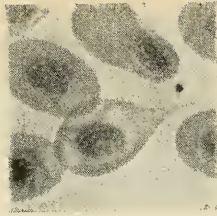


FIG. N.º 5.

Eritrocito con prolongación citoplasmática  
y eritrocito con núcleo excéntrico. *L. pictus*.  
Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

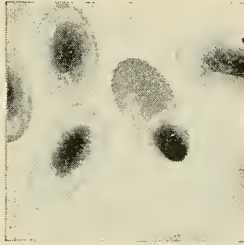


FIG. N.º 6.

Eritrocito con núcleo excéntrico. *L. pictus*.  
Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

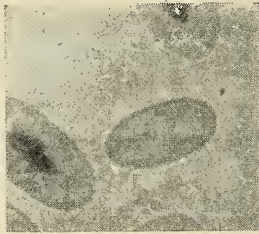


FIG. N.º 7.

Eritrocito anucleado. *L. nigromaculatus*.  
Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

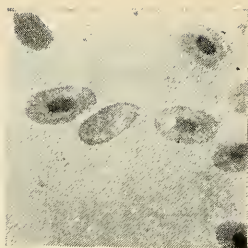


FIG. N.º 8.

Eritrocito anucleado con fina prolongación.  
*L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento  
700 veces.

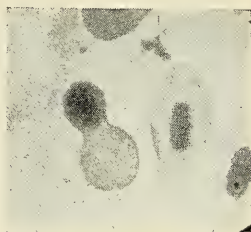


FIG. N.º 9.

Eritrocito con estrangulación en su cito-  
plasma. *L. nigromaculatus*. Coloración panóp-  
tica. Aumento 1 100 veces.

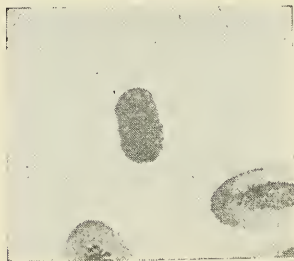


FIG. N.º 10.

Núcleo libre. *L. nigromaculatus*. Coloración  
panóptica. Aumento 1 100 veces.

pues ya en 1897 Eisen (cit. seg. Körner) había constatado que en la sangre de un anfibio urodelo, *Batrachoseps attenuatus*, además de eritrocitos nucleados, se encuentran en cantidad bastante elevada glóbulos rojos sin núcleos. Esta observación ha sido comprobada por Giglio-Tos en 1899. Varios autores los han encontrado después en diversas especies de anuros y urodelos; quisiera mencionar sólo a Maurer (1920) y Beyer, quienes han constatado una frecuencia de 1 eritrocito anucleado por 400-1 000 nucleados, en los urodelos de la Europa Central. Este último autor ha examinado al mismo tiempo la sangre de reptiles europeos, con el fin de establecer la presencia de eritrocitos sin núcleos; pero no logró constatar ni uno solo.

En las dos especies de *Liolaemus* los glóbulos rojos anucleados tienen generalmente forma oval (véase Fig. N.º 7). Son de color anaranjado intenso y de aspecto homogéneo. A menudo encontramos otras formas, especialmente redondeadas y de éstas, unas grandes y otras pequeñas. Además no es raro observar formas ovales o alargadas, con una prolongación en uno de sus extremos, como en el caso de los eritrocitos nucleados, fina o gruesa (véase Fig. N.º 8).

En cuanto al modo de formación de los eritrocitos anucleados, problema que desde hace mucho tiempo interesa a los hematólogos, existen según Körner tres posibilidades teóricas: o el núcleo se hace picnótico y se disuelve poco a poco dentro de la célula, o el núcleo es expulsado sea totalmente sea en fragmentos, o una porción citoplasmática se separa por estrangulación del cuerpo celular para formar en seguida un eritrocito anucleado.

No hemos hecho observación alguna que compruebe la primera posibilidad de la formación de eritrocitos anucleados; ni hemos visto núcleos picnóticos, ni en estado de disolución. Tampoco hemos visto corpúsculos de Jolly que generalmente se interpretan, en los eritrocitos de los mamíferos, como restos nucleares. En lo que se refiere a la segunda posibilidad no puede haber duda que en cierto caso el núcleo de los eritrocitos puede salir del cuerpo celular como lo describiremos más adelante en forma detallada. Pero en este caso, a saber, el de la degeneración del eritrocito, el citoplasma experimenta tan graves trastornos que parece en sumo grado inverosímil que se dé origen, por medio de este mecanismo, a un eritrocito anucleado. Al revés, hemos podido efectuar, en los frotis de las dos especies examinadas, numerosas observaciones que hacen muy probable que los eritrocitos anucleados se forman por separación de una porción citoplasmática periférica que, desprendiéndose del cuerpo celular, se convierte en eritrocito sin núcleo. Pues en muchas ocasiones hemos visto eritrocitos típicos cuyo citoplasma ofrece estrangulaciones (véase Fig. N.º 9); son estos cuadros muy diferentes de los que se ven en las divisiones amitóticas de eritrocitos, porque el núcleo no está interesado en este proceso citológico (merotomía).

Otro problema interesante, discutido en la actualidad por varios autores, es el de los núcleos libres. Según las observaciones de Komocki (1927, 1931/2), Nigrelli (1929; cit. seg. Körner), Jordan y Speidel (1930; cit. seg. Körner) y Slonimski

(1937) se encuentran, en la sangre de varios anfibios, núcleos exentos de citoplasma completamente desnudos, que flotan libremente en el plasma sanguíneo. Su presencia ha sido constatada además en varios peces (Oria 1933, Komocki 1935; cit. seg. Körner).

Como se trata de un fenómeno algo sorprendente, hemos creído conveniente abordar este tema con la debida reserva crítica, pues existe la posibilidad de muchos errores. Desde luego, un linfocito previsto sólo de escasa cantidad de citoplasma podría dar la impresión de un núcleo libre. Además, precipitaciones de colorante podrían, bajo ciertas condiciones, dar origen a equivocaciones en este sentido. Pero, excluidas estas posibilidades, nos hemos convencido de la realidad de estos núcleos libres cuya presencia ha podido ser comprobada en la mayoría de los frotis coloreados de las dos especies estudiadas.

La forma de los núcleos libres es variada: unos son alargados, otros ovals o redondeados. Con la coloración panóptica aparecen de color violeta rojizo, de bordes lisos, ondulados o irregulares. La cromatina ya no forma gránulos, sino que bloques homogéneos separados por surcos claros. Por esto la estructura nuclear es borrosa, casi homogénea (véase Fig. N.º 10).

En lo que se refiere al origen de los núcleos libres, hemos constatado que se trata exclusivamente de núcleos de eritrocitos. Quedan en libertad por citolisis progresiva cuando los eritrocitos han terminado la degeneración típica que representa el fin normal de su existencia como células.

El eritrocito que empieza a degenerar, aumenta de volumen y se redondea (véase Fig. N.º 11). El núcleo se hincha; pierde su estructura característica: se hace más homogénea, borrosa; al mismo tiempo su color pasa de violeta oscuro a violeta claro, hasta llegar a violeta rojizo, que es el característico de los núcleos libres. El citoplasma se aclara, es decir, va perdiendo progresivamente su hemoglobina, se hincha y termina por hacerse completamente transparente. Desde este momento parece que el núcleo queda libre por licuación final del citoplasma (véase Fig. N.ºs 12 y 13).

Otro mecanismo, sin embargo menos frecuente, que da origen a los núcleos libres, consiste en la salida de éste del cuerpo del eritrocito en vías de degeneración. En efecto, hemos observado diferentes estados de este proceso, o sea, formas en que el núcleo es sólo excéntrico, otra en que el núcleo está muy cerca de uno de los bordes del eritrocito y por último, formas en que el núcleo ya sale en parte del citoplasma (véase Fig. N.º 14). En este estado, el citoplasma es voluminoso, de bordes borrosos o irregulares y de color anaranjado muy pálido, homogéneo. El núcleo mismo es también voluminoso, de forma oval, redondeado o irregular, casi homogéneo y de color violeta rojizo (sombra nuclear).

También el eritrocito puede degenerar homogéneamente, es decir, tanto el citoplasma como el núcleo se destruyen al mismo tiempo. En este caso, la cromatina nuclear se desparrama en el citoplasma y aparece ahora todo el glóbulo rojo de color violeta; pero distinguimos aún la separación, por un surco claro,

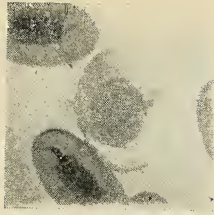


FIG. N.º 11.

Eritrocito en degeneración. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1100 veces.

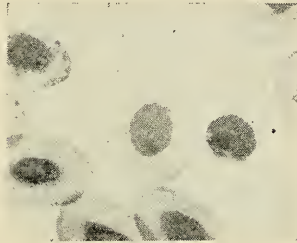


FIG. N.º 12.

Eritrocito que empieza a degenerar y linfocito *L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento 1100 veces.

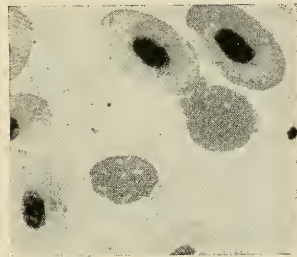


FIG. N.º 13.

Eritrocito y núcleo libre en vías de degeneración. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1100 veces.

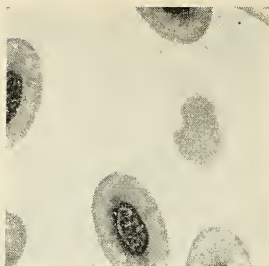


FIG. N.º 14.

Eritrocito bastante deformado, en el cual se ve como el núcleo sale del citoplasma. *L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

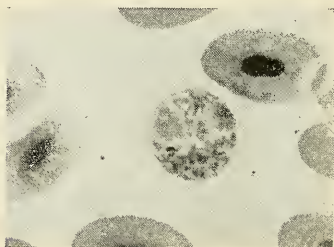


FIG. N.º 15.

Granulocito pseudo-eosinófilo. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

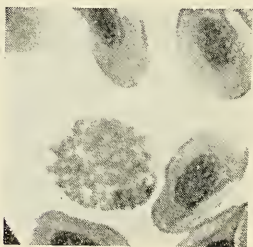


FIG. N.º 16.

Granulocito eosinófilo. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1 000 veces.

entre el citoplasma y el núcleo. Después todo se convierte en una masa homogénea, de color violeta rojizo, de bordes irregulares o despedazados. Este mismo camino parecen seguir los núcleos libres.

Para completar el estudio de los eritrocitos quisiéramos referirnos brevemente a nuestros resultados con respecto a la cantidad de hemoglobina contenida en la sangre de las dos especies, como también al número de glóbulos rojos por mm<sup>3</sup>.

La cantidad de hemoglobina ha sido determinada con el hemoglobínómetro de Sahli, siguiendo la técnica corriente. En el *L. nigromaculatus* ha sido constatado un término medio de 57,6% (V : 40 - 75%), en el *L. pictus* un valor medio de 51,1% (V : 48 - 58%), según observaciones en 8 ejemplares de cada especie.

El recuento de glóbulos rojos (con la cámara de **Thoma-Zeiss**) ha sido efectuado en la misma cantidad de las dos especies. En el *L. nigromaculatus* ha sido constatado un promedio de 1 646 000 (V : 1 320 000 - 1 920 000) por mm<sup>3</sup>, en el *L. pictus* un término medio de 1 654 000 (V : 1 488 000 - 1 800 000) eritrocitos por mm<sup>3</sup>. Para comparar estos resultados con los que se han obtenido en otras especies de reptiles, hemos recogido algunos datos que se encuentran en la literatura a base de los cuales se ha confeccionado la Tabla N.º 3.

TABLA N.º 3

Cantidad de eritrocitos por mm<sup>3</sup>.

Valores medios

<i>L. pictus</i>	1 654 000		
<i>L. nigromaculatus</i>	1 646 000		
<i>Lacerta agilis</i>	1 292 000	Hayem (cit. seg. Schulz y v. Krüger	
			1925).
»	»	1 420 000	Welcker
»	»	1 375 000	Malassez
»	»	945 000	Alder y Huber
»	<i>muralis</i>	1 650 000	Bethe
»	»	960 000	Welcker
»	»	1 447 000	Alder y Huber
»	<i>viridis</i>	840 000	Malassez
<i>Anguis fragilis</i>	1 516 000	Alder y Huber	
<i>Tesaudo graeca</i>	629 000	Hayem	
»	<i>mauritanica</i>	660 000	Malassez
<i>Tarentola mauritanica</i>	692 000	Alder y Huber	
<i>Emys orbicularis</i>	503 000	Alder y Huber	
<i>Coluber natrix</i>	829 000	Hayem	
»	»	868 000	Bethe
<i>Tropidonotus natrix</i>	730 000	Malassez	
<i>Coluber flavescens</i>	1 290 000	Bethe	

En lo que se refiere a la cantidad media de glóbulos rojos por  $\text{mm}^3$ , como lo podemos ver en la Tabla N.º 3, los autores han encontrado cifras muy variadas en las diversas especies de reptiles y aun en una misma especie. Estas diferencias pueden atribuirse en parte a los diversos métodos empleados en el recuento de los eritrocitos. O también podrían explicarse por ciertas enfermedades anemiantes que sufren los animales en cautiverios muchas veces prolongados.

La cantidad de eritrocitos que hemos constatado en las dos especies de lagartijas chilenas, están bastante cerca de los valores medios indicados por **Bethe** y **Alder** y **Huber** para la lagartija europea *Lacerta muralis*. Es evidente que entre los reptiles examinados, son las lagartijas y *Anguis fragilis* las que ofrecen los números de eritrocitos más elevados. Al revés, llama la atención que las tortugas (*Emys*, etc.), presentan las cantidades más bajas, mientras que los ofidios ocupan, a este respecto, una situación intermedia.

### Leucocitos

El número de glóbulos blancos por  $\text{mm}^3$ , constatado en 8 ejemplares de las dos especies según el procedimiento de **Latorre** (1939), fué 18 475 (V : 7 694 - 31 000) en el *L. nigromaculatus* y 29 190 (V : 18 859 - 45 946) en el *L. pictus*.

Hemos distinguido granulocitos pseudo-eosinófilos, eosinófilos y basófilos; mielocitos basófilos, linfocitos, monocitos, células especiales mononucleares y monocitos pigmentados.

### Granulocitos pseudo-eosinófilos

Miden  $11,0 \mu$  (V : 9 -  $13 \mu$ ) en la especie *L. nigromaculatus* y  $11,64 \mu$  (V : 10 -  $13 \mu$ ) en la especie *L. pictus*. Su forma más frecuente es la redondeada, pero a menudo se observan pseudo-eosinófilos ovales, alargados y piriformes.

El citoplasma es abundante, de color azulado muy pálido y de aspecto reticular. En su mayor parte está cubierto de bastoncitos de color rojo oscuro (véase Fig. N.º 15), especialmente cuando el frotis ha sido coloreado con la tinción de **May-Grünwald** aislada. Estos bastoncitos pueden diferenciarse de las granulaciones eosinófilas, ya que éstas son redondeadas y de color rojo claro con la misma tinción. Característica es la disposición de los bastoncitos pseudo-eosinófilos: a veces se encuentran aislados o formando conglomerados y la dirección de la mayoría de ellos se orienta hacia un centro común. En la especie *L. pictus*, es muy difícil fijar los bastoncitos, pues se deforman o se desprenden fácilmente del cuerpo celular, sobre todo si se hace un lavado prolongado; sólo pueden mantenerse en buena forma con la tinción de **May-Grünwald** y mediante un corto lavado.

El núcleo se tiñe de color violeta oscuro, pero no se colorea tan fácilmente como lo hacen los núcleos de las otras células sanguíneas, pues con frecuencia queda parte de él sin teñirse.

La estructura nuclear es fina. La forma del núcleo es variable; a veces es único y otras veces sufre una serie de estrangulaciones. La situación del núcleo es a menudo periférica, especialmente en los pseudo-eosinófilos de núcleo único; en los segmentados se les ve atravesar por medio de sus puentes de unión el espesor de la célula, detalles que se ven mejor cuando están libres de granulaciones.

Los granulocitos pseudo-eosinófilos representan el 12,0% (V : 5,4 - 30,6%) de todos los glóbulos blancos en el *L. nigromaculatus* y el 7,2% (V : 1,4 - 20,0%) en el *L. pictus*, como término medio de observaciones en ocho ejemplares de cada especie. Resulta así una diferencia cuantitativa apreciable entre las dos especies.

En vista de la forma variable del núcleo hemos dividido los pseudo-eosinófilos en células de núcleo único y éstas a su vez, atendiendo a la forma, en células de núcleo oval, arriñonado y en bastón; y atendiendo al número de estrangulaciones, en bisegmentados, trisegmentados, tetrsegmentados y pentasegmentados. Los porcentajes medios de estos tipos nucleares en las dos especies se ven en la Tabla N.º 4.

TABLA N.º 4

**Porcentajes medios de los tipos nucleares de los granulocitos pseudo-eosinófilos en el *L. nigromaculatus* y *L. pictus*.**

Núcleo único:	<i>L. nigromaculatus</i>	<i>L. pictus</i>
oval .....	1,4 %	0,4 %
arriñonado .....	1,5 »	0,4 »
bastón .....	1,2 »	0,3 »
Bisegmentados .....	5,8 »	3,1 »
Trisegmentados .....	1,9 »	2,5 »
Tetrsegmentados .....	0,3 »	0,6 »
Pentasegmentados .....	— »	0,1 »

**Granulocitos eosinófilos**

Los granulocitos eosinófilos son células grandes, generalmente redondeadas y tienen un diámetro de 12,5  $\mu$  por término medio en las dos especies.

El citoplasma es abundante, casi incoloro y en su mayor parte está cubierto por granulaciones, redondeadas, de color rojo claro con la tinción de May-Grünwald, grandes y en número de 70 a 80 en cada eosinófilo. La distribución de los gránulos es irregular: algunos se encuentran aislados y otros forman conglomerados densos (véase Fig. N.º 16).

El núcleo toma color violeta, es de estructura fina y generalmente bisegmentado.

Los granulocitos eosinófilos son escasos. En el *L. nigromaculatus* forman el 1,1% (V : 0,2 - 2,4%), en el *L. pictus* el

0,5% (V : 0,0 - 1,2%) de los glóbulos blancos, según observaciones en ocho animales de cada especie.

### Granulocitos basófilos

Son células redondeadas u ovals. Miden como término medio 8,3  $\mu$  (V : 7 - 11  $\mu$ ) en el *L. nigromaculatus*, 8,6  $\mu$  (V : 7 - 10  $\mu$ ) en el *L. pictus* según mediciones de 100 células en las dos especies. Según el tamaño, podemos distinguir un tipo grande y uno pequeño; y según el número de granulaciones, hay basófilos con muchas y pocas granulaciones.

Los granulocitos basófilos pequeños están enteramente cubiertos de granulaciones de color violeta obscuro. La densidad de éstas es tan grande, que no es posible distinguir el citoplasma y el núcleo de la célula. Las granulaciones son pequeñas y redondeadas, cualidades que sólo se pueden apreciar en el borde del basófilo.

En los granulocitos basófilos grandes encontramos también un número considerable de granulaciones de mayor tamaño, redondeadas, de color violeta obscuro, pero no en tanta cantidad como en el caso anterior. Gracias a esto podemos ver en parte el citoplasma de color azul claro, homogéneo y escaso, y el núcleo, de color violeta claro, bastante grande ya que ocupa la mayor parte de la célula. La forma de este núcleo es difícil de determinar, porque las granulaciones lo cubren casi enteramente (véase Fig. N.º 17).

Encontramos también, pero en menor número, basófilos con escasas granulaciones (véase Fig. N.º 18), situadas en el citoplasma o cubriendo en parte el núcleo. Estos gránulos son grandes, redondeados y de color violeta obscuro. El citoplasma es azul pálido, homogéneo y escaso. El núcleo es grande, de forma oval o arriñonado, de color violeta claro y de estructura fina. En este caso encontramos también formas grandes y pequeñas.

Los granulocitos basófilos forman el 5,3% (V : 2,0 - 10,4%) como término medio en el *L. nigromaculatus* y el 4,7% (V : 1,0 - 9,4%) en el *L. pictus* según recuentos en ocho ejemplares de cada especie.

### Mielocitos basófilos

Además de los granulocitos basófilos hemos constatado en la sangre de ambas especies mielocitos basófilos. El aspecto general de estas células es el de un núcleo de color violeta rodeado de granulaciones gruesas, redondeadas y teñidas de violeta obscuro. Muchas de ellas están desparramadas alrededor de la célula (véase Fig. N.º 19).

El núcleo es grande, redondeado o irregular. A veces puede estar en parte cubierto por las abundantes granulaciones. El citoplasma es escaso, ligeramente azulado y en la mayoría de los casos está enteramente cubierto por los gránulos basófilos.

Su diámetro es de más o menos 15  $\mu$  en las dos especies. Es difícil medir las células en referencia por las abundantes

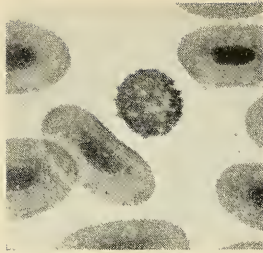


FIG. N.º 17.

Granulocito basófilo rico en granulaciones.  
*L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento  
1 100 veces.

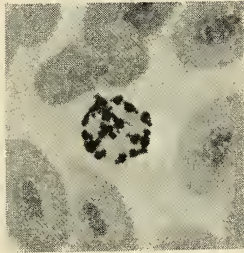


FIG. N.º 18.

Granulocito basófilo con pocas granulaciones.  
*L. nigromaculatus*. Coloración panóptica.  
Aumento 1 100 veces.

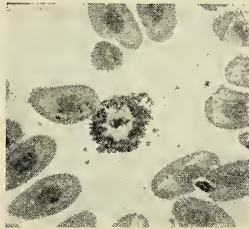


FIG. N.º 19.

Mielocito basófilo y linfocito. *L. pictus*.  
Coloración panóptica. Aumento 800 veces.

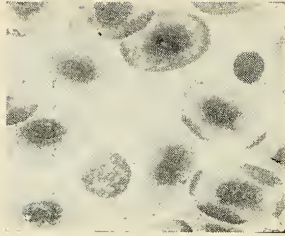


FIG. N.º 20.

Linfocitos (grande y pequeño). *L. pictus*.  
Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

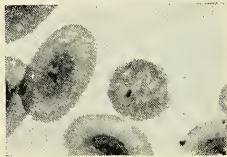


FIG. N.º 21.

Linfocito grande. *L. nigromaculatus*. Colo-  
ración panóptica. Aumento 1 100 veces.

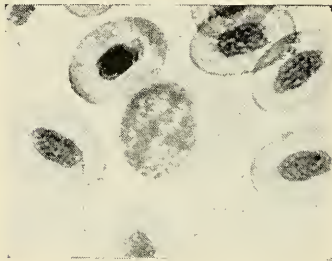


FIG. N.º 22.

Monocito. *L. pictus*. Coloración panóptica.  
Aumento 1 100 veces.

granulaciones que se desparraman alrededor de ellas, borrándose así sus límites.

Los mielocitos basófilos representan el 3% (V : 1-7%) en el *L. nigromaculatus* y el 1,5% (V : 0,0-3,8%) en el *L. pictus* según recuentos en ocho ejemplares de las dos especies.

### Linfocitos

Son células muy numerosas en las dos especies estudiadas, especialmente en la especie *L. pictus*.

Su diámetro mide 7,8  $\mu$  (V : 5-12  $\mu$ ) en el *L. nigromaculatus* y 7,7  $\mu$  (V : 6-12  $\mu$ ) en el *L. pictus* según mediciones de 500 células.

En las dos especies encontramos linfocitos pequeños, medianos y grandes.

Las características de las formas pequeñas son (véase Fig. N.º 20), núcleo relativamente grande, rico en cromatina, de color violeta oscuro y de estructura fina. Rodea al núcleo una escasa cantidad de citoplasma de color azul claro, homogéneo y visible en un lado del cuerpo celular.

En los linfocitos medianos encontramos los mismos caracteres; pero el citoplasma está en mayor cantidad y la estructura nuclear es más clara.

Los linfocitos grandes (véase Fig. N.º 21), dejan ver con más claridad los detalles del citoplasma y del núcleo. El núcleo es redondeado o con una ligera depresión, de estructura reticular y de color violeta claro. El citoplasma se encuentra en mayor cantidad y rodea en la mayoría de los casos a todo el núcleo en forma de una delgada capa. En las tres clases de linfocitos el citoplasma emite prolongaciones, las que son especialmente características en las formas mayores.

En general, los linfocitos son redondeados; pero con frecuencia encontramos algunos ovales, arriñonados, alargados, piriformes o estrangulados. Estos son los linfocitos que con más facilidad pueden confundirse con las células fusiformes y podemos diferenciarlos, hasta cierto punto, gracias a que el núcleo de los linfocitos tiene una estructura más clara, en tanto que el de las células fusiformes es casi homogéneo y de color violeta rojizo con la tinción panóptica. Con mayor seguridad diferenciamos estas células con el método especial, recomendando por Pappenheim (azul de metileno policromo según Unna y fuxina de Ziehl fenicada). En la especie *L. pictus* es más fácil esta diferenciación, ya que los frotis coloreados con la tinción panóptica, las células fusiformes aparecen con una o dos manchas blancas en sus núcleos.

El porcentaje de los linfocitos es bastante elevado en las dos especies. En el *L. nigromaculatus* forman el 66,2% (V : 47-81,2%) y en el *L. pictus* el 77,5% (V : 66,8-91%) de todas las células sanguíneas blancas, según observaciones en ocho ejemplares, constatándose así una marcada diferencia entre las dos especies.

## Monocitos

Son los glóbulos sanguíneos blancos más grandes que se encuentran en las especies examinadas.

Miden en el *L. nigromaculatus*  $13,4 \mu$  (V :  $11 - 17 \mu$ ) y en el *L. pictus*  $13,6 \mu$  (V :  $11 - 17 \mu$ ) por término medio según mediciones en 100 de estas células en cada una de las dos especies.

Su forma es bastante variable: algunos son redondos, ovoides (véase Fig. N.º 22) o alargados, y en otros el contorno se ve modificado por prolongaciones citoplasmáticas. La diversidad de formas seguramente se debe a la actividad del mononuclear.

El citoplasma es abundante, de color azul pálido con la coloración panóptica y en él se dibuja una fina red. A veces el citoplasma es portador de algunas granulaciones de color violeta, grandes o pequeñas. En otras ocasiones se encuentra en su interior vacuolas e inclusiones redondeadas, grandes, de color violeta rojizo y homogéneas. El núcleo es grande y generalmente excéntrico. La forma nuclear es también variada: hay unos redondeados, otros ovales, arriñonados o alargados, pero las formas más frecuentes son las arriñonadas y ovales. Con la tinción nombrada, el núcleo toma color violeta claro y su estructura es fina, reticular. En algunas formas grandes de monocitos, hemos observado dos núcleos.

Representan los monocitos el 9,7% (V : 7,2 - 12,2%) en el *L. nigromaculatus* y el 5,7% (V : 2,2 - 8,6%) en el *L. pictus* como término medio de ocho animales de cada especie.

### Células especiales mononucleares

Son células monocitarias grandes.

El citoplasma se tiñe difícilmente con las coloraciones usadas en nuestros estudios: May-Grünwald, de Pappenheim y hematoxilina-eosina. En la mayoría de los casos sólo se colorea la porción de citoplasma que rodea al núcleo y aún puede quedar enteramente incoloro. En los casos en que el citoplasma se tiñe, lo vemos homogéneo, de color azul muy pálido y muy abundante. Los bordes emiten finas y numerosas prolongaciones. Frecuentemente el citoplasma lleva en su interior granulaciones de color violeta, pequeñas o grandes, abundantes o escasas.

Nos ha sido imposible medir estos leucocitos por la falta de colorabilidad del citoplasma. Cuando había granulaciones que nos indicaban más o menos los límites celulares, pudimos constatar cifras que fluctuaban alrededor de  $15 \mu$ .

El núcleo es precisamente el que, en mayor parte, da el carácter especial a estas células. Su forma es variada: a veces es oval o arriñonado o bilobulado. Se tiñe de color violeta claro y sus granos de cromatina se agrupan de tal manera, que forman redes de mallas gruesas o dan a su estructura un aspecto estriado. Con frecuencia se encuentra en el núcleo, en el centro o cerca de uno de sus extremos, una mancha redonda de color azul pálido (véase Fig. N.º 23 y 24).

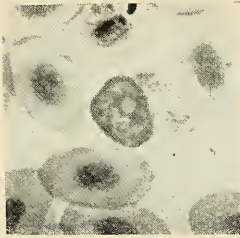


FIG. N.º 23.

Célula especial mononuclear. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

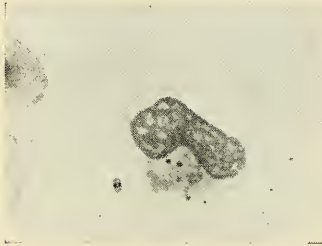


FIG. N.º 24.

Célula especial mononuclear. *L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

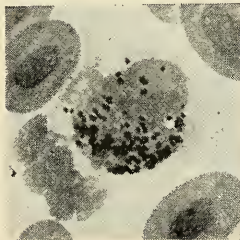


FIG. N.º 25.

Leucocito pigmentado. *L. nigromaculatus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

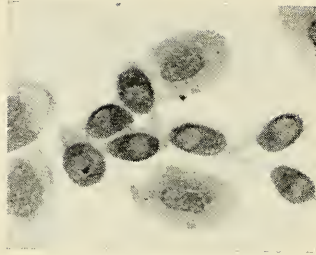


FIG. N.º 26.

Células fusiformes con manchas claras en el núcleo. *L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

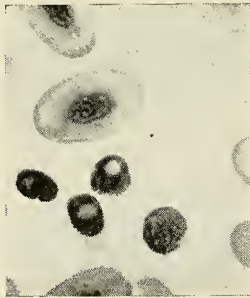


FIG. N.º 27.

Células fusiformes con la típica mancha clara en sus núcleos y un linfocito. *L. pictus*. Coloración panóptica. Aumento 1 100 veces.

El término medio de estas células es de 4,2% (V : 0,4 - 4,4%) en el *L. nigromaculatus* y de 1,5% (V : 0,6 - 2,6%) en el *L. pictus* según recuentos en ocho animales de cada especie.

No estamos en situación de decir si estas células especiales mononucleares representan un elemento morfológico independiente de la sangre de las especies examinadas o si se trata de estados funcionales especiales de los monocitos típicos.

### Leucocitos pigmentados

Ocasionalmente encontramos leucocitos pigmentados, es decir, glóbulos blancos que llevan en su citoplasma gránulos de color negro verdoso, redondeados y grandes. Estos gránulos pueden cubrir también parte del núcleo, haciéndolo parcialmente invisible.

Las células mismas tienen el aspecto y el tamaño de un monocito. El núcleo es grande y excéntrico. El citoplasma es abundante, de color azul pálido y puede estar lleno de gránulos de pigmento. En otros casos la cantidad de pigmento es sólo escasa (véase Fig. N.º 25).

### Células fusiformes

Como su nombre lo indica, su forma más frecuente es la de un huso.

Se encuentran aisladas o formando cadenas o agrupaciones (véase Fig. N.º 26).

El citoplasma es relativamente abundante y prolongado en los polos del núcleo, acentuando la forma fusiforme: se tiñe de color azul pálido, borroso y homogéneo. El núcleo es elíptico, de color violeta obscuro, rojizo, con finos granos de cromatina.

Con frecuencia encontramos células fusiformes de núcleo oval o redondeado, que pueden confundirse con los linfocitos. En los conglomerados los núcleos toman las formas más diversas, dependiendo esto de la presión de las células vecinas: triangulares, alargadas, poligonales, etc.

Un interesante fenómeno se observa regularmente en los núcleos de las células fusiformes, en los frotis coloreados de la especie *L. pictus*. En el centro o cerca de los polos de dichos núcleos, se observa una o dos manchas blancas características, redondeadas y grandes (véase Fig. N.º 27).

La cantidad media de células fusiformes fué 9 650 (V : 2 400 - 15 500) por mm<sup>3</sup> en el *L. nigromaculatus* y 8 128 (V : 5 603 - 16 035) en el *L. pictus*, según recuentos en ocho animales de cada especie.

### BIBLIOGRAFIA

Giglio-Tos, E., 1899.—Dei corpúcoli rossi del sanguenel *Batrachoseps attenuatus*. *Anat. Anz.* 15.

- Grünberg, C., 1901.—Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Leucocyten. Virch. Arch. 163.
- Klieneberger, C., 1927.—Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Leipzig.
- Komocki, W., 1936.—Nouvelles observations sur la désagrégation physiologique des leucocytes granuleux ainsi que sur les leucocytes du sang de *Sphenodon punctatus* Grey (Hatteria). Bull. d'Hist. 13.
- Komocki, W., 1938.—La formation des Erythrocytes dans le sang du *Sphénodon* (Hatteria) *punctatus* Grey. Arch de Biol. 49.
- Körner, F., 1938.—Über die kernlosen Erythrozyten und die freien Kerne im Blut der Urodelen. Zeitsch. Zellforsch. 28.
- Latorre, A., 1939.—Contribuciones a la morfología comparada de la fauna chilena. I. Observaciones hemato- y linfológicas en anuros chilenos. Bol. Soc. Biol. Concepción. 13.
- Maurer, F., 1920.—Das Vorkommen kernloser Erythrozyten bei urodelen Amphibien. Anat. Anz. Erg. 53.
- Meinertz, J., 1902.—Beiträge zur vergleichenden Morphologie der farblosen Blutzellen. Virch. Arch. 168.
- Sabrazés, I. y Muratet, L., 1924.—Examen du sang d' un chaméleón tunisien. C. R. Soc. Biol. 90. Res. Anat. Ber. 10.
- Schaffer, 1921.—Kernlose rote Blutkörperchen bei Amphibien. Anat. Anz. 54.
- Schulz, Fr. N. y v. Krüger, F., 1925.—Das Blut der Wirbeltiere. En: Winterstein, E., Handbuch der vergleichenden Physiologie. T. I. Jena.

Los trabajos que no han sido mencionados en esta bibliografía están citados según Schulz y v. Krüger (1925).