HEMATOLOGIA DE ATERINIDOS DE AGUAS DULCES: GENERO *Chirostoma spp* DEL LAGO DE PATZCUARO, MICH.

Alaye Rahy, N.
Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Pátzcuaro, Mich., I.N.P.

RESUMEN

Se determinaron los parámetros hematológicos básicos en organismos del género *Chirostoma* con longitudes estándar entre 130 y 286 mm, capturados con chinchorro en las zonas norte y sur del Lago de Pátzcuaro. La sangre se obtuvo por punción cardíaca. Los frotis se realizaron en el campo y se dejaron secar al aire. En el laboratorio fueron determinados el número de eritrocitos (1.4-3.0-x10^6/mm^3) de leucocitos (16-68x-10^3/mm^3) y trombocitos (27-63x 10^3 mm^3); la concentración de hemoglobina (3.9-8.4-9%) y el volumen globular, hematocrito (17-54%). Se colorearon los frotis para el recuento diferencial de células y se realizaron pruebas de citoquímica enzimática: carbohidratos (PAS), mieloperoxidasa (pH 6.3) y fosfatasas ácida y alcalina.

En el examen de los frotis para estudiar la morfología celular se encontró en los casos de anemia, presencia de elementos inmaduros de la serie roja, eritrocitos policromatófilos, microcitosis y eritrocitos con transtornos en la hemoglobinización. La anemia es producida principalmente por los hirudíneos hematófagos.

En la fórmula leucocitaria diferencial, los linfocitos representaron el 83% del total de las células blancas; se encontraron células con características de monocitos y tres tipos de granulocitos basófilos, y solamente en dos organismos muy parasitados por sanguijuelas se encontraron eosinófilos. Los trombocitos pueden adoptar formas lanceoladas, de lágrimas y redondas, o pueden encontrarse como núcleos desnudos, susceptibles de ser confundidos con leucocitos. Se encontraron también otras células en números variables, cuyas líneas no fueron identificadas. Se discute la linfopenia ó neutrofilia en relación a la incidencia de parasitosis.

ABSTRACT

Basic haematological parameters were determined in *Chirostoma* from Lake Pátzcuaro ranging 130-286 mm S.L. Blood was collected by cardiac puncture, smears done in the fied and air dried.

Counts of red cells (1.4-3.0 x 10^6/mm^3), white cells (16-68 x 10^3/mm^3) and thrombocytes (27-63 x 10^3/mm^3), hemoglobin amount (3.9-8.4, 9% ml.) and globular volume (17-54%) were analyzed in the laboratory. Blood smears were stained for leucocyte differential counts (Wright), carbohydrates (PAS) and assayed for Peroxidase (pH 6.3), acid and alkaline Phosphatase.

Some smears showed inmature red cells, polichromatophil erytrocytes, microcitosis and red cells with poor amount of hemoglobin, due to anemia caused by ecto parasite (Hirudinea).

Differential leucocytes counts averaged 83% lymphocytes. Concerning granulocytic leucocytes, three diferent types of cells were found. Cells resembling monocytes also were present but eosinophils were found in only 2 out of 50 smears (both cases in highly parasited fishes). No cells with human basophil similarity existed. Thrombocytes adopted several morphological varieties: spiked, spindle, oval or lone nucleus forms. A variable numbers of others presumably inmature white cells, not yet identified, were found. The limphopenia and neutrophilia in relation to parasitic infection, is descussed.

INTRODUCCION

De acuerdo a Jakowska, 1959, la hematología comparada nace en 1938, año en que Jordan publica en el *Handbook of Haematology* un capítulo con este nombre. Esto despertó la atención de médicos y zoólogos que utilizaron las metodologías aplicadas en hematología clínica humana para los estudios de la sangre de invertebrados, peces, anfibios reptiles y aves.

Es hasta un tiempo relativamente reciente, que estos estudios son retomados en teleósteos, principalmente de origen marino, pero todavía utilizando la terminología existente, antes de que la inmunología aportara bases para el conocimiento de la naturaleza y función de los constituyentes celulares; Ellis (1977), hace una extensa revisión de los leucocitos de peces a la luz de los conceptos introducidos por esta disciplina.

En teleósteos de agua dulce, existen datos principalmente en Ciprínidos y Salmónidos, que describen las características morfológicas y citoquímicas de las células sanguíneas en condiciones normales y patológicas, Gardiner *et al.* (1969), Da Silva *et al.* (1970), Bogner *et al.* (1975) y Caxton Martin (1978) entre otros.

Se sabe que el deterioro ecológico del ambiente por la presencia de agentes contaminantes, infecciosos y parasitarios, afectan a los componentes biológicos de las aguas, de las cuales los peces son los más importantes.

Existen datos cualitativos y cuantitativos de sangre periférica de la trucha que confirman el diagnóstico emitido por otros criterios, pero que poseen siempre valor decisivo en ciertas enfermedades víricas, como la septicemia hemorrágica vírica (SHV) y la necrosis dérmica ulcerativa (NDU); y otras enfermedades por intoxicación por sobredosis de medicamentos o en la degeneración grasa del hígado, en las cuales las alteraciones hemáticas afectan tanto a la serie eritrocitaria, manifestándose con anemia, presencia de eritrocitos pequeños y aumento de las mitosis y lisis celulares, como a la fórmula leucocitaria con una disminución o aumento marcado del número de leucocitos (Deufel, J. *et al.*, 1975).

La intoxicación por plomo en la trucha arco iris, produce anemia y aumento de la tasa de destrucción de los eritrocitos al bloquear los grupos SH y la síntesis del grupo hemo. El cadmio también produce un aumento del tamaño de los eritrocitos, destrucción y anemia, mientras que en la intoxicación por cobre la respuesta es más inespecífica (Haider, G., 1975).

En el caso de parasitosis por *Acanthocephalus* en la trucha de río y arco iris, se reporta un aumento del número de células granulares (eoninófilos y neutrófilos) en los sitios de inflamación (Bullock, 1963 en Ellis, 1977) al igual que en ciertas condiciones estresantes, como la captura, confinamiento o desnutrición, en las que se produce un marcado aumento del número de eosinófilos de la sangre y tejidos (Slicher, 1961 en Ellis, 1977).

Por lo anterior la hematología constituye una herramienta de gran utilidad para el monitoreo de las condiciones ambientales al detectar las alteraciones producidas en los órganos hematopoyéticos y en elementos celulares de la sangre.

ANTECEDENTES

El género *Chirostoma* está representado en el Lago de Pátzcuaro por las diferentes especies que constituyen el pescado blanco (Alaye *et al.*, 1988) y otras de menor talla conocidas como charales.

De acuerdo a los estudios limnológicos realizados en los laboratorios de biogeoquímica y ecotoxicología del CRIP-Pátzcuaro, que comprenden biogeoquímica y productividad (Klimek *et al.*, 1988), balance hidrológico (Klimek, 1988) azolve y variación de volumen (Klimek 1988) y vegetación acuática del Lago de Pátzcuaro (Klimek *et al.*, 1988), éste se encuentra en un estado de eutroficación creciente y pérdida de volumen, debido a varios factores, entre los que podemos mencionar; deforestación de la cuenca, extracción del agua para riego y consumo humano, invasión de la vegetación acuática y la introducción de contaminantes en una cuenca cerrada.

Todo esto está afectando a uno de los principales recursos turísticos y económicos de la región; el pescado blanco, sobre el que además se ejerce una presión de pesca por el uso de artes destructivos como el chinchorro y el aumento del número de pescadores.

De acuerdo a los estudios parasitológicos realizados por investigadores de la UNAM (Lamothe *et al.*, 1986-1987) y por el Laboratorio de Sanidad del CRIP-Pátzcuaro, (Hernández *et al.*, 1987-1988), estas especies poseen un alto grado de parasitosis interna y externa por trematodos, nemátodos e hirudíneos, que contribuye aún más a deteriorar la calidad y retardar su crecimiento.

OBJETIVOS

Como punto de partida para definir los estados de salud y enfermedad, es necesario conocer la citología sanguínea de esta importante especie nativa, considerando que no existe en la literatura de aterínidos estudios de esta naturaleza.

AREA DE ESTUDIO

El Lago de Pátzcuaro se ubica en una cuenca endorreica sobre el Eje Volcánico Tarasco Náhuatl o Cordillera Neovolcánica.

En las cartas topográficas de CETENAL E14A21 y E14422 de 1977, las coordenadas geográficas entre las que se ubica el lago son:

Longitud W 100° 32' 10" a 101° 43' 00"

Latitud N 19° 32' 00" a 19° 41' 14"

La superficie a máximo nivel es de 11775 Ha, incluidas unas 300 Ha de islas y 500 Ha de zonas pantanosas (Llaguno *et al.* en Klimek, 1988).

El área terrestre de la cuenca es de aproximadamente 66000 Ha.

La profundidad máxima reciente es de 12 m (noviembre de 1984) en la zona norte del Lago. El volumen máximo reciente: 285×10^6 m^3 (octubre de 1987) (tomado de Klimek, 1988).

El clima es templado con una temperatura media anual de 16°C., lluvias entre junio y noviembre con una precipitación promedio de p=1000 mm/año.

El clima se define según Koeppen como C(W) (W'2) b (i').

La vegetación terrestre de la cuenca del lago comprende bosques de coníferas, bosques de encino y la vegetación secundaria derivada de ellos. La vegetación acuática está representada por diversas comunidades de macrófitas: emergentes de hojas flotantes y flotadoras libres.

Las especies nativas de la ictiofauna del lago quedan incluidas en 3 familias: Goodeidae, Cyprinidae y Atherinidae, con un total de 10 especies. Se han introducido al lago 6 especies correspondientes a 3 familias: Centranchidae, Cyprinidae y Cichlidae.

MATERIAL Y METODOS

Obtención de la muestra

Se escogieron 50 organismos del género *Chirostoma* pescados con chinchorros, con longitudes standard entre 130-286 mm. Estos se obtuvieron de la pesca comercial en la parte norte del lago, frente a las localidades de Ichupio, San Jerónimo, San Andrés y Oponguio, y en la zona sur, frente a Uranden y desde Janitzio hacia la costa de Erongarícuaro.

La sangre fue obtenida por punción cardíaca, colectándose con jeringa de 1 ml y aguja de 23 G. Fue depositada en frascos con anticoagulante de Wintrobe (0.1 ml/ml de sangre) y conservada en frío durante su traslado al laboratorio.

Frotis de sangre

Los frotis de sangre periférica y órganos hematopoyéticos, riñón, bazo e hígado fueron realizados en el campo y dejados secar al aire.

Recuento de células

La cantidad de eritrocitos y leucocitos fue determinada en cámara de Neubauer, usando pipetas de eritrocitos para realizar las diluciones. Estas fueron llenadas hasta 0.5 con sangre y llevadas a 101 con líquido de dilución de Rees-Eckert (Klonttz, 1979). De esta manera los leucocitos son detectados como puntos negros reduciendo la iluminación.

Los trombocitos fueron determinados por un método indirecto en frotis, contando la cantidad observada en 3000 - 4000 eritrocitos.

El hematrocito fue determinado usando tubos capilares, y cuando hubo dificultad para obtener la sangre, éstos se llenaron directamente en el sitio de la punción.

La hemoglobina fue determinada como cianometahemoglobina utilizando líquido diluyente de Drabkin.

Histoquímica y citoquímica enzimática:

Los frotis fueron teñidos con el colorante de Wright.

Los carbohidratos fueron demostrados por la técnica de PAS (*Sigma Diagnostics*).

Se hicieron reacciones para las siguientes enzimas: Mieloperoxidasa a pH. 6.3 (*Sigma Diagnostics*); Fosfatasa ácida (*Sigma Diagnostics*) y Fosfatasa alcalina (*Sigma Diagnostics*). Los frotis fueron tratados y conservados en cuanto a fijación y luz, según como lo determinaba cada técnica.

Para todos los organismos fueron registrados el lugar de pesca, la fecha, la longitud estándar y total, el peso y la presencia de parásitos externos (sanguijuelas) en boca y branquias.

Las especies fueron determinadas de acuerdo a las claves de Hubbs y Lagler para Aterínidos (Barbour, 1973).

RESULTADOS

En total fueron sangrados 50 organismos de diferentes especies del género *Chirostoma*, en los que en poco más de la mitad fue posible determinar la mayoría de los parámetros hematológicos, y en los restantes, dada la poca cantidad de muestra, solamente se realizaron hematocrito y frotis de sangre periférica.

Dada la gran variación observada dentro de los rangos de una especie única, no es posible dar una tabla de valores normales que pueda ser usada con cierto grado de validez, por lo cual decidimos manejar los resultados obtenidos en estas especies cogenéricas, a nivel de género, estableciendo los parámetros "normales" a través de un mayor número de organismos que reflejan las variaciones normales (manejo, estrés, inflamación, metabolismos, madurez, sexo, dieta, contaminantes).

En la tabla 1 se dan los resultados de los parámetros hematológicos determinados en las diferentes especies.

TABLA 1. Parámetros hematológicos determinados en *Chirostoma estor*

Especie	L.STD/mm.	ERIT/10^6/mm^3	HTO.%	Hbgr%	VCMu^3	CHCM%	HCMug	LEUCOC/mm^3
-	156	-	29	-	-	-	-	-
-	137	-	30	-	-	-	-	18000
C.e. copand	197	2.13	36	3.9	169	8.8	15.2	35000
C.e. copand	275	1.60	34	5.2	212	15.2	32.5	25000
C.e. estor	220	2.20	29	7.7	131	26.5	35.0	26000
C.e. copand	202	-	27	-	-	-	-	-
C.e. estor	256	1.56	38	-	243	-	-	30000
C.e. estor	228	1.86	51	-	274	-	-	33000
C.e. estor	213	1.40	40	-	285	-	-	44500
C.e. estor	248	2.40	50	5.2	208	8.8	21.0	31000
C.e. estor	211	1.90	48	5.5	252	9.4	25.0	39000
C.e. estor	188	2.20	36	4.3	163	9.9	16.2	16000
C.e. estor	232	1.80	43	5.6	238	10.8	25.9	31000
C.e. estor	219	1.90	42	5.1	221	10.2	22.6	33500
C.e. estor	200	2.00	32	4.5	160	11.8	19.0	33000
C.e. estor	195	2.22	45	5.1	202	11.3	23.0	60000
C.e. estor	265	1.63	38	5.6	233	14.7	34.0	18000
C.e. estor	220	2.12	42	6.8	198	16.1	32.0	19500
C.e. estor	181	2.13	36	7.8	169	21.6	36.0	32000
C.e. estor	205	2.01	31	5.7	155	18.3.	28.5	24000
C.e. estor	240	2.38	32	5.5	134	17.1	23.0	68000
C.e. estor	205	-	32	-	-	-	-	-
C.e. estor	209	-	35	-	-	-	-	-
C. humbold	191	1.67	26	-	185	-	-	31500
C. humbold	222	1.63	17	4.7	104	27.6	29.0	28,000
C. humbold	150	-	28	-	-	-	-	-
C. humbold	166	2.0	-	-	-	-	-	-
C. lucius	292	2.83	50	8.4	176	16.6	29.3	53000
C. lucius	283	2.17	54	7.7	248	14.0	34.5	38000
C. lucius	192	1.86	41	7.5	223	18.0	40.0	30000
C.e. copand	208	2.10	25	5.5	114	22.0	26.1	21000
C.e. estor	210	1.70	46	4.8	242	8.8	22.0	40000

L.STD - Longitud estándard, ERIT - Eritrocitos, HTO - Volumen globular, Hb - Hemoglobina y LEUCOC - Leucocitos

TABLA 2. Determinaciones sanguíneas realizadas en el género *Chirostoma* del lago de Pátzcuaro, Mich.

PARAMETROS	NUMERO	RANGOS ANALISIS	MEDIAS $\bar{X}$	DESV. STD. s
Eritrocitos (10 6/mm3)	26	1.4-3.0	2.01	0.35
Hemoglobina (9%)	21	3.9-8.4	5.8	1.25
Hematocrito (%)	31	17-54	37.8	8.6
Leucocitos (10 3/mm3)	26	11.2-68	31.6	14.2

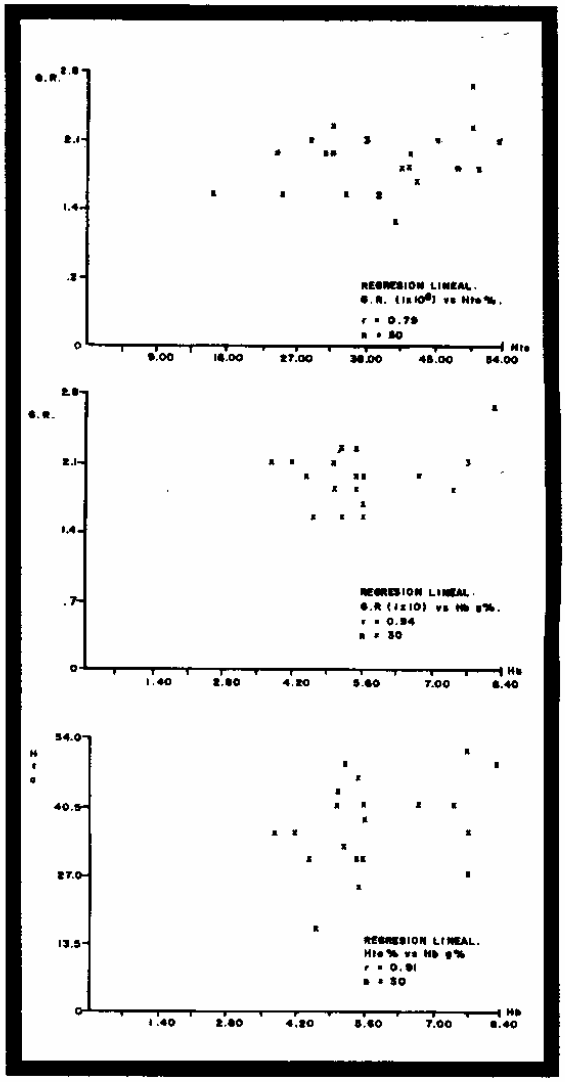

Figura 1. Valores de r obtenidos de las regresiones lineales entre parámetros de la serie roja (n° de eritrocitos, concentración de Hb y volumen Globular).

En la tabla 2 se dan rangos, medias y desviaciones estándar. En la figura 1 se muestran las correlaciones obtenidas de las regresiones entre la cantidad de eritrocitos (G.R.), la hemoglobina (Hb) y el volumen globular (Hto); el valor mayor se obtuvo entre el número de eritrocitos y la hemoglobina.

Citología diferencial

Serie eritrocítica: Los eritrocitos maduros se observan como células nucleadas de forma elíptica con la cromatina nuclear gruesa, de gránulos redondos de color rosado obscuro intenso y citoplasma gris rosado. En los frotis se observaron un número variable de eritrocitos con citoplasma azul-gris, de forma circular y menor tamaño que los normales que corresponderían a eritroblastos policromatófilos.

El número de estas células en algunos casos llega a 480 por cada 100 leucocitos, y por lo general van acompañadas de eritrocitos casi vacíos y con muy poca hemoglobina.

Esto indicaría regeneración o hiperplasia eritroide para compensar la pérdida de sangre producida por los hirudíneos hematófagos, pero con defectos o fallas en la hemoglobinización, ya que el número de células "vacías" en ciertos casos es de 400 por cada 100 leucocitos. (Figs. 3 y 4).

Fórmula leucocitaria

Se observaron frotis de sangre periférica de 50 *Chirostoma;* la sangre de éstos se caracteriza por una predominancia de linfocitos, la presencia de monocitos, tres tipos de granulocitos neutrófilos, ausencia de basófilos y los eosinófilos se encontraron solamente en dos del total de casos examinados (Fig. 2, Tabla 3).

Linfocitos: oscilan entre un 75-92%, con una media de 83% de los cuales un 5% son linfocitos grandes. Su estructura y morfología es muy semejante a los linfocitos de mamíferos. En algunas preparaciones se observaron linfocitos con nucleolos y evaginaciones (Fig. 4). Dan reacción negativa con PAS y Peroxidasa; Fosfatasa ácida positivos y conservan esta actividad luego del tratamiento con tartrato y también muestran actividad de Fosfatasa alcalina positivos.

Monocitos: De acuerdo a Ellis (*op. cit.*) es correcto designar al precursor de los macrófagos en la circulación, como monocito, en analogía a las células de los vertebrados. Se encontraron de 1-10% con una media de 5.3%.

Células grandes, con un núcleo excéntrico de forma irregular, a veces arriñonado, cromatina de consistencia regular y a veces presenta nucleólos. El citoplasma es de color azul-gris, sin gránulos. Dan una reacción positiva débil al PAS, Peroxidasa negativos, Fosfatasa ácida, ligera a moderada y Fosfatasa alcalina, negativa a moderada. En algunos se observan vacuolas y evaginaciones. En estos casos la cromatina nuclear es más fina y son PAS y Peroxidasa negativo. Su aumento va asociado por lo general, con el de alguno de los tres tipos de granulocitos neutrófilos.

Serie granulocítica: Se identificaron tres tipos de granulocitos neutrófilos que guardan semejanza a las células fagocíticas descritas por Parish *et al.* (1985) para elasmobranqueos, y por analogía los designamos:

Granulocito 1b (Glb): célula grande, de forma redonda, relación N/C 1:1 núcleo irregular, algo cuadrado, ligeramente desplazado, membrana nuclear bien delimitada, sólo interrumpida en pequeños tramos, con la cromatina gruesa y mediana dispuestas en haces o paquetes, conectados por puentes finos y gruesos, de color brillante. El citoplasma es gris pálido con escasos gránulos azurófilos y consistencia grumosa. Existe en proporción de 1-6%.

Granulocito 2 (G2) el núcleo presenta forma de banda o cayado y es la forma menos frecuente; se encuentran del 1-14%.

Granulocito 3 (G3), el núcleo es más pequeño y completamente desplazado hacia el borde de la célula, con las demás características iguales. Existen en proporción del 1-19%, pero en parasitosis intensas llegan hasta un 16-28%.

Los tres tipos presentan reacciones positivas fuertes al PAS y Peroxidasa, una reacción muy ligera a la Fosfatasa ácida y solamente el G2 presenta positividad a la Fosfatasa alcalina (Figs. 5 y 6).

Granulocito eosinófilo: Consideramos a esta célula, por analogía a la de mamíferos a saber, célula de gránulos eosinófilos gruesos, uniformes, esféricos que se tiñen de amarillo-naranja o rojo-naranja con colorantes de Romanowsky (Kindred, 1971), presentan el núcleo picnótico, desplazado hacia el borde muy semejante al del G3, citoplasma vacuolado, lo que sugiere que son fagocitos activos. Solamente se encontraron en dos de los 50 casos estudiados y en los cuales los peces estaban muy infectados por

TABLA 3. Valores porcentuales de leucocitos en sangre periférica de *Chirostoma* sp (n=40)

	PORCENTAJES		
TIPO CELULAR	X	Rangos	Desv. Std.
Linfocitos	83	75-92	5.6
Gran. neutrófilos:			
G_{1b}	3.6	1-6	1.6
G_2	2.5	1-4	2.3
G_3	4.2	1-9	2.6
Eosinófilos	-	-	-
Basófilos	-	-	-
Monocitos	5.3	1-10	2.6

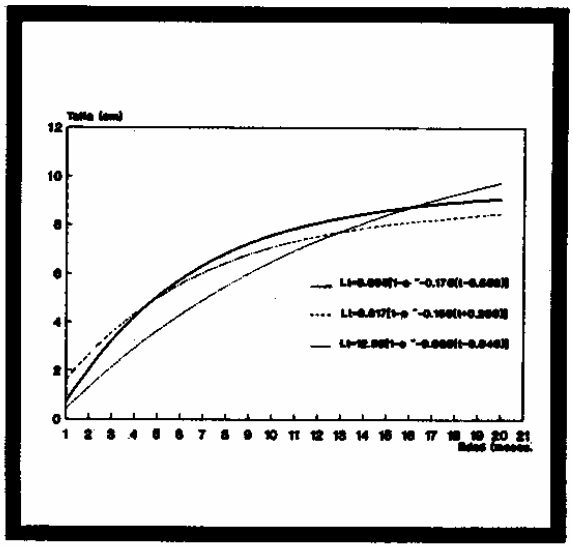

Figura 2. Medias de valores absolutos de leucocitos en sangre periférica de *Chirostoma*.

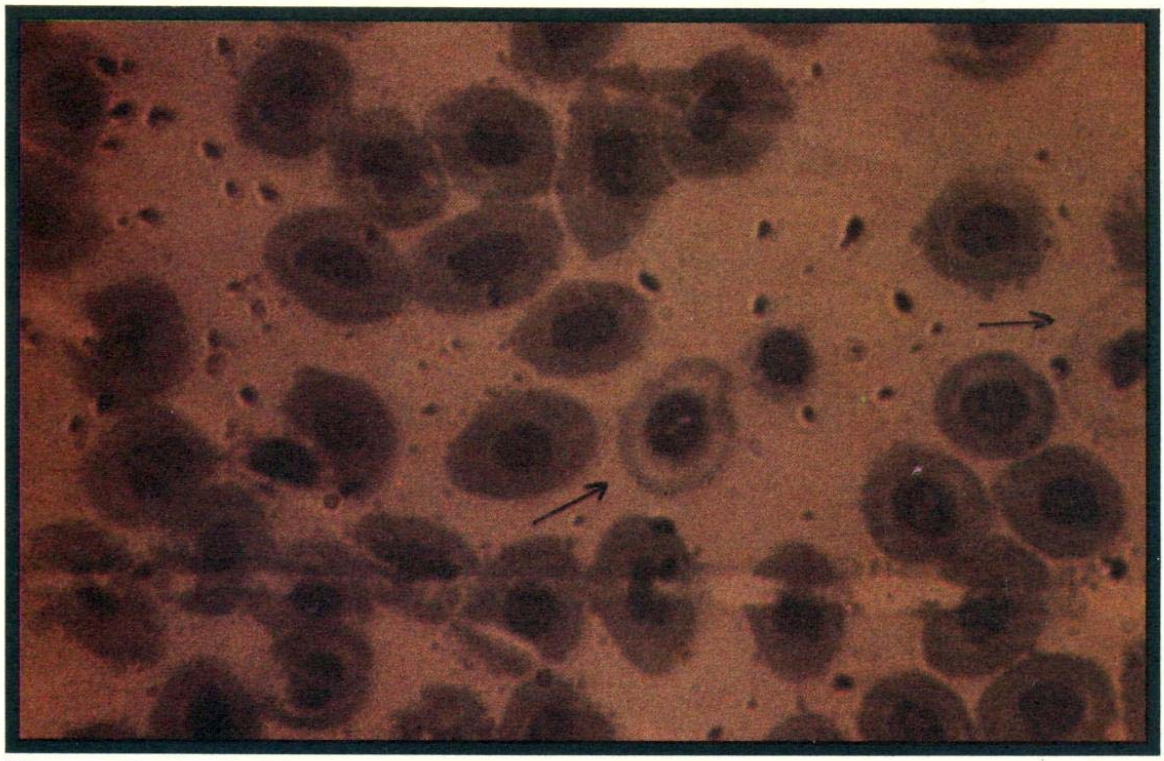

Figura 3. Eritrocitos de *Chirostoma* en un caso de anemia marcada. Se observan algunos de menor tamaño, forma circular y "vacíos de hemoglobina". Wright. X 1000.

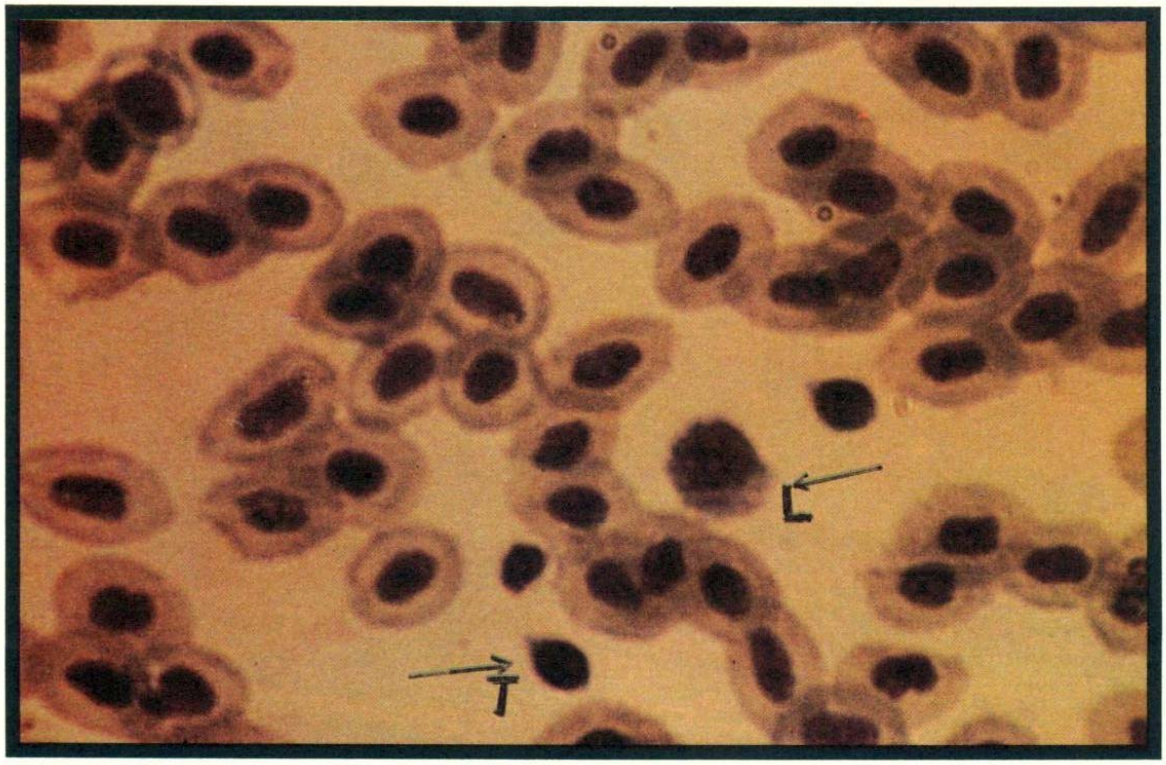

Figura 4 Tres trombocitos y un linfocito grande. Eritrocitos con marcada hipocromía. Wright. X 1000.

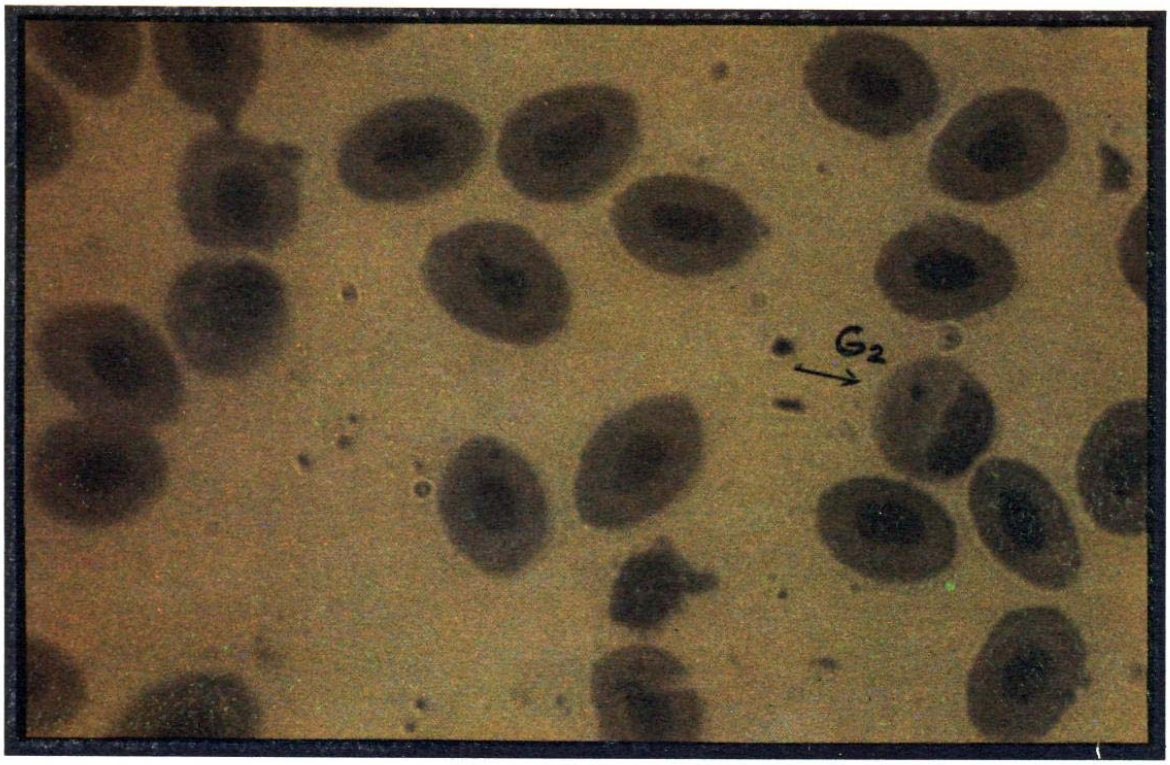

Figura 5. Granulocito tipo G 2 en sangre periférica de *Chirostoma* Wright. X 1000.

Figura 6. Granulocitos tipo G 1b y G 3 en sangre periférica de *Chirostoma*. Wright. X 1000.

sanguijuelas. Son de reacción positiva fuerte al PAS, positiva con Peroxidasa y algunos gránulos aislados del citoplasma son positivos para Fosfatasa ácida; ciertas células presentan reacciones positivas para Fosfatasa alcalina (Fig. 7).

Granulocitos basófilos: no se encontraron células con las características de basófilos de mamíferos.

Trombocitos: Se ha observado que en los frotis los trombocitos pueden presentarse como formas lanceoladas o de lágrimas cuando están aislados y en formas de núcleos desnudos, cuando están en acúmulos. Estas últimas, que serían las formas activas, cuando se encuentran aisladas pueden ser confundidas con linfocitos. La diferencia estriba en que los trombocitos son de menor tamaño y presentan la cromatina más compacta.

Su número varía entre 27-63 x 10 mm^3 con una media de 47.5 x 10 mm^3. En las reacciones citoquímicas las formas lanceoladas o de lágrimas presentaron una reacción positiva moderada para Fosfatasa ácida que se localizó principalmente en los gránulos situados en los polos (Fig. 4).

Existen otras células que aparecen en ciertos frotis en número variable; son mononucleares con el citoplasma de color azul rey intenso, el núcleo con la cromatina en gránulos grandes y dispersos de color violeta: el tamaño y la forma del núcleo guarda cierta semejanza con el de los linfocitos y monocitos; se observaron también otras de tamaño regular, con el núcleo redondeado o algo cuadrado con cromatina fina y a veces presentan uno o más nucleolos. Es probable que sean formas blásticas de la serie roja o blanca que son liberadas de los órganos hematopoyéticos bajo ciertos estados de estrés o condiciones patológicas, que necesitan ser estudiados (Fig. 8).

En la tabla 4 se presentan los porcentajes de leucocitos obtenidos en 10 organismos capturados entre Erongarícuaro y la isla de Janitzio, zona en donde los peces presentaron una menor incidencia de infección por sanguijuelas y en fechas fuera de la época de desove de la especie para evitar variaciones introducidas por hormonas durante el periodo de madurez sexual.

En la tabla 5 se presentan fórmulas leucocitarias de *Chirostoma* que presentaron linfopenia, asociada frecuentemente al aumento de un tipo de granulocitos neutrófilos, anemia y alteraciones de la fórmula eritrocitaria, presumiblemente como respuesta a la parasitosis por hirudíneos y en la tabla 6 se presenta un resumen de la citoquímica celular normal.

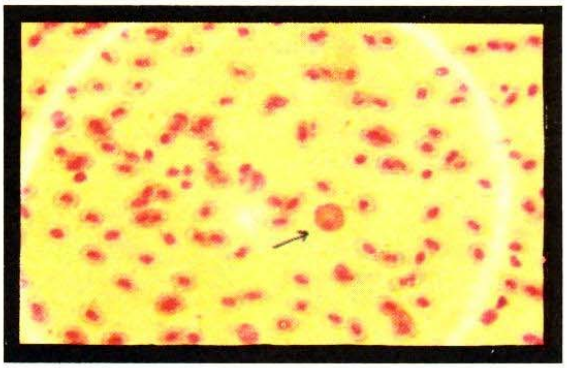

Figura 7. Eosinófilo en sangre periférica, con núcleo desplazado hacia un extremo. Wright. X 100.

DISCUSION

Creemos que este trabajo aporta elementos importantes para el conocimiento del estado clínico de una especie nativa de la cual no existen antecedentes con este enfoque.

El número de casos estudiados, así como la cantidad de frotis examinados para determinar el tipo y número de células blancas en sangre periférica, nos permiten establecer con bastante certeza los extremos dentro de los cuales pueden variar los parámetros hematológicos, en condiciones normales y patológicas.

Mucho se ha insistido en la literatura de hematología en peces que la dispersión de los resultados encontrados se debe a respuestas de factores ambientales y fisiológicos, especialmente al estrés debido a la captura y toma de la muestra de sangre, más aún si como en este caso ésta se realiza por punción cardíaca y sin anestesia (aunque no estén bien establecidas las alteraciones que la narcosis pueda introducir.)

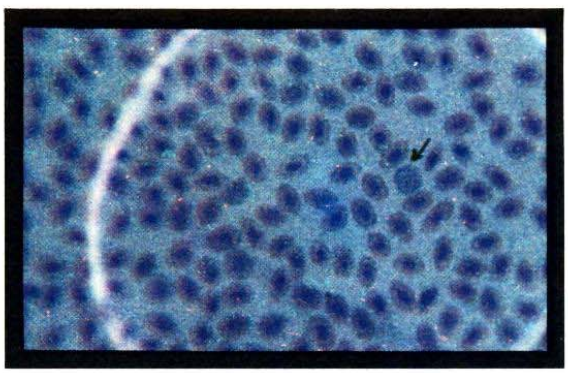

Figura 8. Célula de sangre periférica, con núcleo de granulaciones tenues y citoplasma azul intenso. Wright X 100 y filtro azul.

TABLA 4. Conteo de leucocitos de *Chirostoma estor* sin parasitosis externa (zona de Erongarícuaro).

No.	FECHA	ESPECIE	L.STD.	LINFOC. %	NEUTR.G$_{1b}$ %	NEUTR.G$_2$ %	NEUTR.G$_3$ %	EOSINOF. %	MONOC %	OTRAS %
1	JUN/89	*C.e.estor*	215	75	3	4	9	0	1	8
2	JUN/89	*C.e.copand*	143	82	5	2	4	0	7	0
3	JUN/89	*C.e.estor*	174	79	3	3	1	0	4	10
4	JUN/89	*C.lucius*	157	80	5	1	4	0	10	0
5	JUN/89	*C.lucius*	217	91	1	1	3	0	4	0
6	JUN/89	*C.e.estor*	177	84	3	4	3	0	6	0
7	JUN/89	*C.e.estor*	139	87	4	2	4	0	3	0
8	JUL/89	*C.e.copand*	201	83	3	1	6	0	7	0
9	AGO/89	*C.e.copand*	206	92	2	1	1	0	4	0
10	AGO/89	*C.lucius*	193	82	5	4	5	0	4	0

L.STD - Longitud estándard, LIFOC - Linfocitos, NEUTR.G 1B - Granulocito neutrófilo 1B, NEUTR.G 2 - Granulocito neutrófilo 2, NEUTR.G 3 - Granulocito neutrófilo 3, EOSINOF - Granulocito eosinófilo y MONOC - Monocito

De acuerdo a Pickering (1989) la respuesta del pez a un estrés agudo, consiste en una serie de cambios metabólicos, desde un estado anabólico de captura y almacenaje de energía hacia uno catabólico en el cual se quiebran las reservas corporales. Como resultado de la activación del eje talámico-hipofisario-interrenal (HPI), se produce liberación de ACTH en sangre, lo que a su vez estimula la producción de cortisona por las células del tejido interrenal del riñón anterior.

En salmónidos, de acuerdo al mismo autor, los niveles de cortisona aumentan bruscamente a los 5 minutos de iniciado el estrés y permanece alto por varias horas alterando el metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos.

La resultante producida de uno a dos días de la incidencia de un estrés agudo, como sería en este caso el manejo durante la captura y toma de muestra en una especie más sensible aún que la trucha, es un cambio en la composición de los glóbulos blancos circulantes, con una disminución marcada en el número de linfocitos, linfopenia.

De acuerdo a lo expuesto, las variaciones encontradas en el presente estudio, no serían producto del estrés (ya que el tiempo transcurrido desde la captura hasta la toma de la muestra no es suficiente para alterar el número y la calidad de las células) sino que reflejan el estado clínico de los organismos.

En humanos, la neutrofilia está por lo general asociada con linfopenia, y en los peces ocurre lo mismo posterior a un estrés, por inyección de adyuvante, ACTH o infestación por parásitos (Ellis, *op. cit*).

De acuerdo a la tabla 5 no siempre se correlacionan la linfopenia y el número de parásitos externos en cada organismo. Las causas pudieran explicarse según Pickering (*op. cit*) a las diferentes etapas de respuesta del pez hacia el estrés: al invadir el parásito se desencadenan los mecanismos que pone en marcha el estrés agudo, pero al persistir el estímulo se inicia el estrés crónico, o sea aquél del cual el pez no puede escapar y al que debe adaptarse aún con el riesgo de aumentar la susceptibilidad a las enfermedades. En estos casos los niveles de cortisona vuelven a la normalidad a pesar del agente provocador y no hay linfopenia. Otras causas podrían ser las siguientes:

a) Las sanguijuelas una vez saciadas abandonan el hospedero (Hernández, J. comunicación personal) o lo abandonan durante las maniobras de captura, cuando los peces están confinados.

b) La linfopenia (o la neutrofilia) es producida por los parásitos internos que no fueron valorados en este estudio.

Es bien conocida en mamíferos la relación que existe entre eosinofilia y reacciones alérgicas e infecciones parasitarias.

TABLA 5. Conteo dè leucocitos de *Chirostoma estor* que presentaron linfopenia generalmente asociada a parasitosis por hirundineos (sanguijuelas)

No.	ESPECIE	L.STD. mm	LINFOC. %	NEUTR.G_1 %	NEUTR.G_2 %	NEUTR.G_3 %	EOSINOF. %	MONOC. %	N°SANG.
1	C.e.copand	186	77	10	6	4	0	3	1
2	C.e.estor	210	72	6	2	10	0	10	5
3	C.e.estor	138	56	16	7	4	9	8	13
4	C.e.estor	222	75	6	4	6	0	9	3
5	C.e.estor	232	64	0	0	26	0	10	3
6	C.humbold	212	75	6	15	3	0	1	5
7	C.e.copand	142	72	0	0	28	0	0	10
8	C.e.estor	205	80	0	0	20	0	0	5
9	C.e.estor	195	71	9	1	9	0	10	0
10	C.e.copand	230	80	0	0	18	2	0	5

N° SANG - Número de Sanguijuelas

En peces se ha encontrado que los eosinófilos aumentan en casos de estrés por confinamiento y en los sitios de inflamación por infecciones de acantocéfalos (Ellis, *op. cit*).

En este estudio, de un total de 50 casos examinados solamente se encontraron eosinófilos en dos casos, ambos en organismos muy parasitados. Cabría preguntarse a qué tipo de respuesta deben su presencia estas células; si en reacción a los alergenos del parásito como mediadoras de una reacción de tipo anafiláctica o como parte del aumento general de células fagocíticas junto con los neutrófilos y monocitos, en una respuesta de tipo inflamatorio.

Como ya se mencionó, el pescado blanco tiene otros parásitos, de los cuales el más estudiado ha sido un tremátodo, el *Postodiplostomun*. También está infectado por céstodos y nemátodos (Osorio, Hernández. *op. cit*). Estos se encuentran en cerebro, hígado, músculos y cavidad abdominal. No sabemos si algún tipo de alteración hematológica esté directamente relacionada, por lo que consideramos necesarios estudios histológicos, citológicos y citoquímico de sangre y órganos hematopoyéticos.

Si bien las alteraciones encontradas en los eritrocitos, como anemia, microcitosis, policromatófilos e hipocromía, se explican por la presencia de parásitos hematófagos, tampoco en estos casos se relaciona el grado de anemia con la cantidad de saguijuelas encontradas, y la explicación es la misma que se mencionó cuando se analizaron las alteraciones de la fórmula leucocitaria.

Sí existe una relación entre la zona de pesca y la incidencia de parásitos. De acuerdo a Sabanero *et al.* (*op. cit.*), se encontró que en la zona norte del Lago existe un 77% de peces parasitados con un promedio de 2.5 sanguijuelas por pez, mientras que en la zona sur la incidencia fue del 67% con 3 sanguijuelas por pez. Nosotros encontramos un 50% de peces parasitados entre Erongarícuaro y Janitzio, zona alejada de las orillas invadidas por vegetación acuática emergente, en donde tienen sus nidos las sanguijuelas y en donde desova el pescado blanco.

Al respecto, es interesante determinar si el pescado blanco, carnívoro cuando es adulto, come al parásito o éste penetra circunstancialmente al abrir la boca, ya que en todos los casos registrados las saguijuelas se encontraron en la boca, salvo en un caso que fue en branquias: más aún, en otras especies del lago sólo están reportadas sanguijuelas en las branquias.

CONCLUSIONES

1.- Se dan los rangos entre los cuales varían los parámetros hematológicos en organismos del género *Chirostoma* del Lago de Pátzcuaro, en condiciones normales y patológicas.

2.- Se encontraron organismos con anemia marcada, microcitosis, eritrocitos inmaduros

TABLA 6. Citoquímica de leucocitos de *Chirostoma*

TIPO CELULAR EXAMINADO		PEROXIDASA A pH 6.3	FOSFATASA ACIDA A	FOSFATASA ACIDA B	FOSFATASA ALCALINA	PAS
Linfocito		-	++ a +++	+/-	+	-
	G1b	+++	+/-	-	-	+++
Neutrófilo	G2	+++	+/-	-	++	+++
	G3	+++	+/-	-	-	+++
Eosinófilo		++		+	-	+++++
Monocito		-	+/- a ++	+/- a ++	- a ++	- a +/-

+++ Reacción marcada, ++ Reacción difusa, + Reacción débil y difusa, +/- Reacción indeterminada y - Reacción negativa

e hipocromía, lo que da una idea de una franca actividad eritropoyética, probablemente como un mecanismo compensatorio ante algún síndrome hemorrágico existente (Hirudíneos hematófagos).

3.- Los elementos de la serie leucocitaria muestran variaciones cualitativas y cuantitativas, posiblemente en respuesta a diversos estímulos: parasitosis interna y externa, estrés y contaminación.

4.- Los linfocitos pequeños y grandes representan el 83% del total de leucocitos presentes.

5.- Se encontraron células con características de monocitos que aumentan por lo general paralelamente con los granulocitos neutrófilos.

6.- Los granulocitos neutrófilos morfológicamente se asemejan a las células fagocíticas de elasmobranquios y su aumento se asocia con parasitosis externa (sanguijuelas).

7.- Los granulocitos eosinófilos solamente se encontraron en dos del total de casos estudiados. Uno de los organismos presentaba además 13 sanguijuelas y neutrofilia.

8.- No se encontraron leucocitos basófilos.

9.- Los trombocitos adoptan formas laceoladas, de lágrimas y redondas; también pueden presentarse como nucleos desnudos que se pueden confundir con linfocitos.

10.- La hematología puede aportar indicadores valiosos para conocer el estado clínico de las especies confinadas en cuerpos de agua con problemas por el deterioro ecológico.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Sergio Sabanero Meza, quien realizó la toma de la muestra de sangre de todos los organismos estudiados con gran destreza, haciendo posible el presente trabajo, además de la ayuda prestada durante el trabajo de campo y fotográfico.

A la Biol. Marta Quiroga del Instituto de Morfología, ENCB, del Instituto Politécnico Nacional por el tiempo dedicado en las pláticas de consultas con ella sostenidas y por la información proporcionada, con el deseo de poder realizar en el futuro una copublicación que complemente este trabajo.

Al Tec. Conalep Nicolás Hernández Zárate por su colaboración durante el trabajo de campo y en el mantenimiento del Laboratorio de Bioquímica.

LITERATURA CITADA

AGUIRRE, C.C., 1985. *Estudio hematológico de la trucha arco iris en el Centro Piscícola El Zarco, D.F., y la granja rural de Guadalupe, Estado de México.* ENEP-Iztacala, UNAM.

ALAYE, N y J.L. ARMENDIA. 1987. *El pescado blanco (género Chirostoma) del Lago de Pátzcuaro; composición de especies.* Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.

BARBOUR, C.D., 1973. The sistematics and evolution of the genus *Chirostoma* swaison (Pisces Atherinidae). *Tulane Studies in Zoology and Botany.* 18(3): 97-144.

BOGNER, K.H., y A.E. ELLIS. 1975. Propiedades y funciones de los linfocitos y tejido linfoide de los peces. *En: Trabajos sobre Histopatología de los peces.* Reinchebank-Klinke. Acribia Zaragoza, España. Pp. 36-48.

CAXTON-MARTINS, A.E. y A.M. NGANGWUCHU. 1978. A. cytochemical study of the rainbow lizard. J. Anat. 125 (3): 447-480.

DA SILVA, M. PITOMBEIRA y J. MURIKO, 1970. Hematology of the Spanis Mackerel. *Copeia* (1): 182-186.

DEUFEL, J y C. DOLLNITZ. 1975. Diagnóstico citohematológico de algunas enfermedades en la trucha "arco iris" (*Salmo gairdneri* Richarson). *En: Trabajos sobre Histopatología de los peces*. Reinchebank-Klinke. Acribia Zaragoza, España. Pp. 25-35.

ELLIS, A.E., 1977. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish Biol.* 11: 453-491.

GARDINER, G.R. y P.P. YEVICH. 1969. Studies on the bood morphology of three estuarine cyprinodonteform fishes. *J. of the fish Research Board of Canada* (26): 433-447.

HAIDER, G., 1975, Modificaciones hematológicas en peces tratados con diferentes metales pesados. *En: Trabajos sobre Histopatología de los Peces*. Reinchebank-Klinke. Acribia. Zaragoza, España. 99 p.

HEMATOLOGIA COMPARADA. Datos tabulados y Bibliografía. 10 p.

HERNANDEZ LOPEZ, J. y S. SABANERO, 1987. *Parásitos encontrados en peces de importancia comercial en el Estado de Michoacán*. Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.

JAKOWSKA, S.A., 1959. Algunos aspectos en Hematología comparada. *Rev. Biol.* 7(2): 143-155.

KINDRER, J.E., 1971. An attempt at a subjetive and objetive clasification of the acidophilic granulocytes of some marine fishes. *Biol. Bull.* 140: 416-426.

KLIMEK, R., 1988a. *Balance hidrológico del Lago de Pátzcuaro*. Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.

KLIMEK, R., 1988b. *Azolve y variaciones de volumen del Lago de Pátzcuaro*. Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.

KLIMEK, R. y N. ALAYE. 1988. *Hidroquímica y Productividad del Lago de Pátzcuaro*. Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.

KLIMEK, R. y O. KLIMEK, 1988. *Vegetación acuática del Lago de Pátzcuaro. Biomasa, utilización y control.* Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.

KLONTTZ, G.W., 1979. *Fish Health Management.* University of Idaho, Moscow. 150 p.

OSORIO SARABIA, D., 1986. *Helmintos de peces en Pátzcuaro, Michoacán*. 1: *Helmintos de Chirostoma estor el "pescado blanco". Taxonomía*. Inst. Biol. Dep. Zool., Lab. Helmintologia. UNAM.

PARISH. N., A. WRATHA MELL y J.E. HARRIS., 1985. Phagocytic cells in the dog fish. *In Fish Inmunology.* M. Manning and F. Tatner. Academic Press. London. pp. 71-84.

PICKERING. A.D., 1989. *Factors affecting the susceptibility of slamonid fish to disease*. Fresh Biological Association. Windermere Laboratory. England. Annual Report. Pp. 61-80.

RIBELIN. W.E. y G. MIGAKI. 1975. *The Patology of Fishes.* The University of Wisconin Press, Wisconsin, 1004 Pp.

SABANERO, S y J. HERNANDEZ LOPEZ. 1987. *Incidencia de saguijuelas (Hirudineos) en el pescado blanco (Chirostoma spp) del Lago de Pátzcuaro.* Publicación interna del CRIP-Pátzcuaro.