

ESTUDIO CITOGÉNÉTICO, HORMONAL Y HEMATOLÓGICO DE DOS NUTRIAS GIGANTES DE RÍO

Góngora JH*, Moncayo VE.*
Bernal JE.**

Salgado C.***
Gardeazabal J****, Orjuela D.****
Gómez A, García J.†
Savogal C.††

Centro de Biología Molecular Gimnasio Campestre*
Centro de Biología Molecular Gimnasio Campestre**
PREGEN- Red Colombiana de Genética***
PREGEN- Red Colombiana de Genética****
Fundación Zoológico de Cali*****
Corpoica Macagual†
Universidad de la Amazonía††

RESUMEN

Muestras de sangre de dos Nutrias Gigantes de Río (*Pteronura brasiliensis*) fueron utilizadas para realizar estudios hematológicos, hormonales y citogenéticos. Adicionalmente, se analizaron variables morfológicas de estos especímenes.

Se obtuvieron cariotipos con un patrón de bandas G y C, definiendo las regiones eucromáticas y heterocromáticas. Adicionalmente, se observó en cada uno de los animales los siguientes valores: 45 y 57% de hematocrito, 11.600 y 12.300 leucocitos, 4.41 y 4.57 de TSH y 1.41 y 1.38 de T4, resultados que no presentan diferencias significativas con estudios hematológicos y hormonales realizados en primates y humanos. La hembra presentó una longitud total de 169 cm y 22 kg de peso y el macho una longitud total de 149 cm y 19 kg, valores que se encuentran dentro de aquellos observados en ésta especie.

La importancia de este trabajo radica en establecer diversos parámetros que sirvan en estudios comparativos con otros representantes de la familia Mustelidae y de los especímenes utilizados.

Palabras claves: Nutria Gigante de Río, Cariotipo de Nutria, Hemograma de Nutrias, TSH, T4, *Pteronura brasiliensis*.

SUMMARY

Blood samples from two Giant River Otters (*Pteronura brasiliensis*) were used to study hematology, hormonal, cytogenetic and morphometric variables.

G and C bands were obtained for the cariotypes, defining the euchromatic and heterochromatic regions. Likewise, the following amounts were observed: 45 and 57% of hematocrites, 11600 and 12300 of leukocytes, 4.41 and 4.57 of TSH and 1.41 - 1.38 of T4. Results do not show meaningful differences compared to hematology and hormonal studies tested in primates and humans.

The female presented a total body length of 169 cm and 22 kg and the male a total body length of 149 cm and 19 kg considered average for this specie.

The importance of this study is the establishment parameters that will allow the comparison of the Otter with other species of Mustelidae family as well as the clinical diagnosis.

Key words: Giant Otter, Otter Carioype, Otters Hemogramme, TSH, T4, *Pteronura brasiliensis*.

INTRODUCCIÓN.

La Nutria Gigante de Río es un mamífero semiacuático de la familia Mustelidae bioindicador de los sistemas de agua en la selva húmeda tropical. Estudios citogenéticos previos usando tinción con Giemsa, establecieron que la *Pteronura brasiliensis* presenta un número de 38 cromosomas, dotación cromosómica que es conservada entre las nutrias y otros mustélidos, observándose diferencias en la cantidad de cromosomas acrocéntricos y metacéntricos¹.

La hormona tiroidea (T4) es el principal producto de secreción de la glándula tiroidea. Circula en la sangre en forma libre unida a proteínas (globulina transportadora de hor-

monas tiroideas TBG, albúmina, prealbúmina). Tiene por función la maduración de tejidos, gasto de energía y metabolismo de casi todos los sustratos, vitaminas y hormonas, incluyendo las propias hormonas tiroideas. Los valores de referencia de la tiroxina (T4) son de 4.5 a 12.5 micro gramos por decilitro en el ser humano^{2,3}. La hormona estimulante de la tiroides (TSH) tiene por función la maduración de tejidos y participa en el metabolismo de infinidad de sustratos para el mantenimiento de la homeostasia orgánica. Controla la secreción de la hormona T4. Los valores de referencia de la TSH son de 1.2 a 12.5 micro gramos por decilitro en el ser humano^{2,4}

En el ámbito hematológico los principales componentes de la sangre (eritrocitos, leucocitos, hemoglobina) son

parámetros importantes para determinar posibles enfermedades y estado de salud general del organismo. Los valores de referencia para el ser humano son: hematocrito 40 a 45 %, 11.000 a 12.000 mm³ de leucocitos y 13 a 15% de hemoglobina⁵.

La *Pteronura brasiliensis* es una de las especies de nutrias de mayor tamaño que presenta las siguientes medidas: largo de cabeza y cuerpo de 1000 a 1200 cm; largo de la cola de 530 a 700 cm; largo del pie trasero 176 a 207 cm y un peso de 24 a 34 kg⁶. Habita en los ríos de la selva tropical suramericana, incluyendo la Orinoquia y Amazonia Colombiana⁸⁻¹¹.

METODOLOGÍA

Morfometría

Las medidas morfométricas de las principales estructuras corporales de las dos nutrias gigantes de río (*Pteronura brasiliensis*) que se encuentran en exhibición en el zoológico de Cali se tomaron después de ser sedados los animales con xilacina y ketamina, siguiendo las recomendaciones sugeridas por Emmons Louise⁶.

Cariotipo - Bandas G Bandas C

Muestras de sangre de una hembra de seis años de edad y de un macho de dos años de edad fueron cultivadas en medio RPMI, con 10% de Suero Fetal Bovino y 5% de Fitoheamaglutinina por 72 horas a 37 °C y 5% CO₂. Se adiciónó Colchicina por 45 minutos, seguido de tratamiento con solución hipotónica por 10 minutos. El procesamiento de las muestras se realizó usando fijador (Metanol:Ácido Acético, 3:1) y centrifugando a 4000 rpm durante 10 minutos por tres veces, descartando el sobrenadante y resuspendiendo el botón. La última suspensión celular con las metafases fue extendida sobre láminas porta objeto tratadas con solución salina citratada 2XSSC y posteriormente con tripsina y coloreadas con Giemsa para bandas G. Para bandas C se utilizó una solución de HCl 0.2N seguido de un tratamiento con hidróxido de Bario al 5%, posteriormente se trataron con un buffer 2XSSC y se colorearon Giemsa. Fueron observadas al microscopio de luz normal determinando el patrón de bandas y fotografiadas usando rollos ASA 100.

Análisis Hormonal TSH y T4

Muestras de sangre de dos nutrias fueron recolectadas en tubos con anticoagulante heparina y mantenidas en refrigeración. Posteriormente se colocaron en tubos de polipropileno marcados con radioisótopos I¹²⁵, agregando anticuerpos monoclonales de alta afinidad para T4 y TSH. Se mezclaron en bernes, y se incubaron durante 72 horas. Para TSH se realizó un lavado con buffer fosfato, descartando el sobrenadante. La solución obtenida se leyó usando el programa RIA⁴⁻⁶.

Hemograma

Muestras de sangre de dos nutrias fueron colectadas en tubos con anticoagulante y mantenidas en refrigeración.

Posteriormente se realizó frotis sanguíneo para determinar tipos celulares y se leyeron los valores de velocidad de sedimentación ajustando la curva de calibración al 55% del hematocrito en un contador hematológico.

RESULTADOS

Morfometría

Las medidas morfométricas, longitud total 169 cm y 149 cm, longitud de la cola 56 cm y 55 cm de las dos nutrias gigantes de río (*Pteronura brasiliensis*) hembra y macho respectivamente, además de otras medidas obtenidas en este estudio son características de especímenes adultos tabla No 1.

Nombre de la Nutría	Carolina	Lluvia
Sexo	Hembra	Macho
Edad aproximada (meses)	66	25
Peso (Kg.)	22	19
Longitud Total (cm.)	169	149
Longitud cuerpo (cm.)	98	77
Longitud cabeza (cm.)	17	17
Longitud cola (cm.)	56	55
Temperatura corporal (°C)	39,9	38,9
Frec. Cardíaca l/min.	70	104
Frec. Respiratoria r/min.	32-60	32-60

Tabla No 1: Medidas morfométricas de 2 Nutrias Gigantes de Río (*Pteronura brasiliensis*) Actualmente en exhibición en el Zoológico de Cali.

Cariotipo - Bandas G Bandas C

Se obtuvo un patrón de bandas G bien definidas en los pares cromosómicos 1, 2, 3, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17 y el par sexual y, un patrón de bandas G menos definidas en los pares cromosómicos 4, 6, 7, 13, 15 y 18, para ambos cariotipos (Figura No 1).

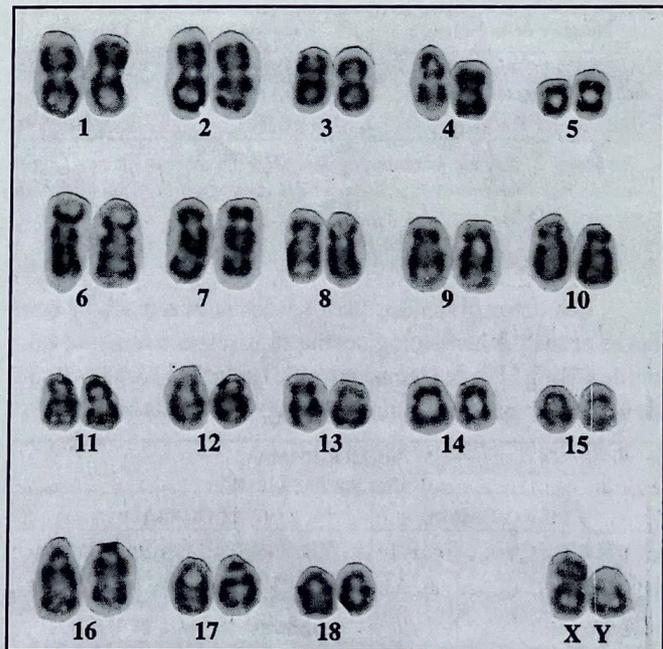


Figura No. 1 Cariotipo de linfocitos de Nutria Gigante de Río macho, coloreados con Giemsa Bandas G presentando una dotación diploide de 38 cromosomas.

Las bandas C muestran de manera más clara la localización de regiones heterocromáticas en los pares cromosómicos 1, 3, 7, 8, 9, 10, 12, 13 y 15 y menos definidas en los pares cromosómicos 2, 4, 5, 6, 7, 11, 14, 16 17 y 18 (Figura No 2).

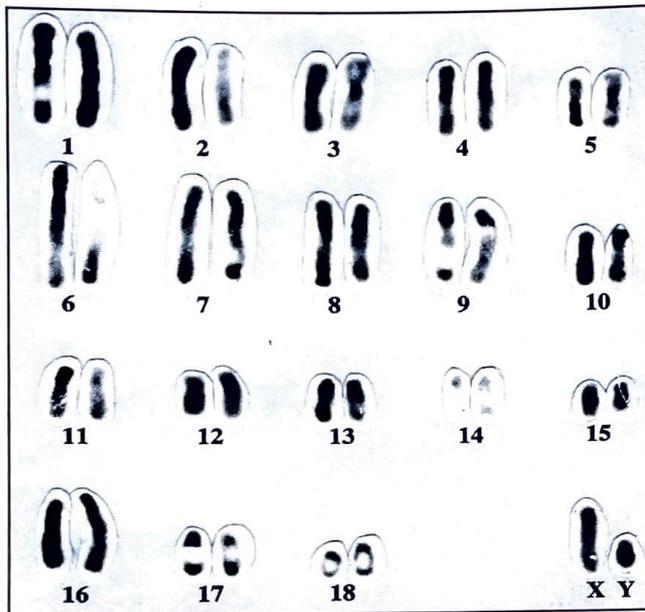


Figura No. 2 Cariotipo de linfocitos de Nutria Gigante de Río macho, tratados con solución alcalina diluida y coloreados con Giemsa. Bandas C presentando una dotación diploide de 38 cromosomas.

Análisis Hormonal TSH y T4

Los datos obtenidos para las dos nutrias hembra y macho en el análisis hormonal muestran respectivamente valores de 4.57 y 4.41 de TSH y 1.41 y 1.38 de T4 (tabla No 2).

Nombre de la Nutría	Carolina	Lluvia
Sexo	Hembra	Macho
TSH	4.57	4.41
T4	1.41	1.38

Tabla No 2: Valores hormonales de TSH y T4 de dos Nutrias Gigantes de Río (*Pteronura brasiliensis*) del Zoológico de Cali utilizando técnica RIA.

Hemogramas

Los datos obtenidos para las dos nutrias macho y hembra en el análisis hematológico muestran respectivamente valores de 45% y 57% de Hematocrito, de leucocitos 13.4% y 19.3% de hemoglobina, 11.600 mm³ y 12.300 mm³ (tabla No 3 y 4).

HEMOGRAMA Nutría macho "Lluvia"			
ERITROGRAMA		LEUCOGRAMA	
CRITERIO	Gr. %	CRITERIO	
Hemoglobina	13.4	Leucocitos	11.600 mmc
Hematocrito	45	Neutrófilos	54 %
CH CM		Eosinófilos	25 %
Eritrosedimentación		Plaquetas	Normales
		Linfocitos	21 %

Tabla No 3: Datos reportados del Hemograma de la Nutría Gigante de Río (Lluvia-macho) del zoológico de Cali.

HEMOGRAMA Nutría hembra "Carolina"			
ERITROGRAMA		LEUCOGRAMA	
CRITERIO	Gr. %	CRITERIO	
Hemoglobina	19.3	Leucocitos	12.300
Hematocrito	57	Neutrófilos	80 %
CH CM		Eosinófilos	3 %
Eritrosedimentación		Plaquetas	Disminuidas
		Linfocitos	17 %

Tabla No 4: Datos reportados del Hemograma de la Nutría Gigante de Río (Carolina-hembra) del zoológico de Cali.

DISCUSIÓN

Las medidas morfométricas de las dos nutrias gigantes de río (*Pteronura brasiliensis*) obtenidas en este estudio muestran valores similares con las reportadas en los estudios realizados por Emmons Louise H⁷. Además en este estudio se reportan datos de interés fisiológico como la temperatura corporal, frecuencia cardíaca y la frecuencia respiratoria.

El patrón de bandas G permitió establecer las unidades estructurales de cromatina condensada en cada uno de los cromosomas⁶ y definir de manera más precisa los cromosomas homólogos para los 18 pares somáticos y el par sexual.

El patrón de bandas C permitió definir acertadamente los pares de cromosomas homólogos y determinar las secuencias que están comúnmente localizadas en la región del centrómero, estructuras ricas en secuencias simples altamente repetitivas (satélite), que no tienen una función de codificación conocida⁶.

El análisis hormonal de las dos nutrias hembra y macho muestran valores similares para los reportados en la especie humana en las dos hormonas TSH y T4, y estas mediciones pueden ser útiles para determinar posibles anomalías.

Los datos obtenidos para las dos nutrias macho y hembra muestran una diferencia de comportamiento en el análisis hematológico, siendo similar los valores obtenidos para la Nutría macho con los referenciados en la especie humana en todos los parámetros estudiados. La Nutría hembra presentó valores superiores a los referenciados para la especie humana en todos los parámetros estudiados.

El conocimiento de datos clínicos de interés (hemograma, estudio hormonal de TSH-T permite tener parámetros de comparación en clínica veterinaria y así poder conocer el estado general de éstos organismos y poder compararlos con los datos referenciados para otros especímenes. Además, se pueden tener criterios fundamentales para determinar anomalías fisiológicas que influyan en posteriores estudios comparativos en el ámbito de familia y orden.

La caracterización citogenética y clínica de esta especie es un nuevo aporte al inventario y conocimiento de la fauna Colombiana que pretende crear conciencia entre los jóvenes, de la importancia de conservar nuestros recursos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Góngora J, Bernal JE. Estudio Citogenético de la Nutría Gigante de Río. *Revista El Astrolabio* 1 mayo 1999;(1):7-11.
2. Best, Taylor. *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. Décima Edición.* Ed. Panamericana 1982:786-90 y 1016-20.
3. *Manual Neonatal IRMA. Procedimiento y valores de medición de T4.* Diagnostic Products Corporation. August 31, 1998.
4. *Manual Neonatal IRMA. Procedimiento y valores de medición de TSH.* Diagnostic Products Corporation. May 1, 1997.
5. *Sociedad Americana de diagnóstico clínico. Elaboración y cuantificación de hemogramas.* http://www.farestai.com.ar/docs/analisis/f_z/HEMOGRAMA.html.
6. Burkholder, Gary D. *The Basis Of chromosome Banding.* *Applied Cytogenetics* 19 1993;6
7. Emmons Louise H. *Mamíferos de los bosques húmedos de América Tropical. Una Guía de Campo.* FAN Bolivia Ed. 1999;164-5.
8. Valladares M. *Ríos vivos para la nutria.* Fondo Mundial para la Naturaleza. Madrid: 1996:10-9.
9. *The University of Michigan – Museum of Zoology – Animal Diversity Web/ADW Home/Animal/ Search/Pteronura brasiliensis Grant Ottes.* [http:// WWW.oit.itd.umich.edu/bio/doc.cgi/Chordata/Mammali..](http://WWW.oit.itd.umich.edu/bio/doc.cgi/Chordata/Mammali..)
10. Stailo E, Schenck C, eds. *Lobo del Río Frankfurt: Esta –Druck, S. Tafertshofer Polling, 1994;1-24.*
11. Macdonald D, ed. *The Encyclopedia of Mammals.* New York: 1995; 124-9.