



Identificación y descripción de la grasa parda en murciélagos de la ciudad de Corrientes

Alegre, E.A.* ; Ramirez, G.V. ; Salinas, F.M. ; Burguener, F. ; Ruiz, R.M.

Cátedra Salud Pública. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2139. Corrientes, Argentina. ✉ elsaal1604@gmail.com

Resumen

El tejido adiposo pardo cumple múltiples funciones vitales para los murciélagos, además de tener un rol epidemiológico importante en la localización y mantenimiento de ciertos agentes patógenos. Sin embargo, no existen datos sobre la presencia de este tejido en especímenes de nuestra región, por lo que el objetivo del presente trabajo fue identificar tejido adiposo pardo en murciélagos insectívoros de la ciudad de Corrientes. Se trabajó con 11 ejemplares, capturados en el periodo de abril a julio, lográndose identificar macroscópicamente, en todos los murciélagos estudiados, tres regiones bien definidas de localización de grasa parda: interescapular, axilar y gonadal, las cuales fueron confirmadas histológicamente. Estos resultados representan los primeros datos de identificación de tejido adiposo pardo en murciélagos de la ciudad de Corrientes, permitiendo sumar conocimiento de los quirópteros de nuestra región y establecer en futuros trabajos, en conjunto con otras características, el posible rol de la grasa parda y su relación con agentes patógenos en diferentes especies de murciélagos.

Palabras clave: quirópteros, insectívoros, tejido adiposo marrón.

Urban insectivorous bats from Corrientes, identification and description of their brown fat

Abstract. Brown adipose tissue fulfills multiple vital functions for bats, in addition to playing an important epidemiological role in the localization and maintenance of certain pathogens. However, there is no data regarding the presence of this tissue in specimens from our region, so the objective of this study was to identify brown adipose tissue in insectivorous bats from the city of Corrientes. We worked with 11 specimens captured between April and July, successfully identifying macroscopically, in all studied bats, three well-defined regions of brown fat localization: inter-scapular, axillary, and gonadal, which were histologically confirmed. These results represent the first identification data of brown adipose tissue in bats from the city of Corrientes, contributing to the knowledge of bats in our region and establishing in future works, together with other characteristics, the potential role of brown fat and its relationship with pathogens in different bat species.

Key words: chiropterans, insectivores, brown adipose tissue.

INTRODUCCIÓN

Los murciélagos poseen un conjunto de características y atributos que los diferencian del resto de los mamíferos, siendo los únicos de este orden con capacidad de realizar un verdadero vuelo, hecho que les permitió colonizar una gran variedad de ecosistemas (Medellín et al. 2007). Una de las propiedades más importantes de estos mamíferos radica

en su capacidad de modificar su temperatura corporal, de acuerdo con la del ambiente y a la mayor o menor disponibilidad de alimento, mediante los mecanismos de torpor e hibernación. Ambos mecanismos permiten al animal ahorrar energía ante condiciones ambientales desfavorables. Esta reserva energética es almacenada en un tejido adiposo especializado conocido como grasa parda o tejido adiposo marrón (TAM) (Miotti 2016, Miotti 2020).

Dicha reserva no se mantiene estable más bien fluctúa según variaciones ambientales, principalmente la temperatura (Sulkin et al. 1959) la cual influye principalmente en murciélagos que habitan el hemisferio norte, donde existe un marcado descenso de la temperatura durante las estaciones frías. En base a este aspecto numerosos estudios fueron llevados a cabo en diversas especies de murciélagos que hibernan y en los que se ha podido observar mayor depósito de grasa parda en concordancia a la llegada del invierno (Wells et al. 1965, Ewing et al. 1970, Arevalo et al. 1990). En cambio, en el hemisferio sur, de clima subtropical-templado, se cuenta con muy pocos antecedentes sobre el comportamiento de la grasa parda de los murciélagos durante las diferentes estaciones del año. Esta falta de datos se acentúa en nuestro país, específicamente si hablamos de murciélagos que habitan zonas urbanas, donde no existen trabajos que se centren en las características de la grasa parda, su presencia o ausencia en las diferentes especies y, en aquellos ejemplares que la tengan, estudios que describan la localización anatómica y descripción morfológica del TAM y su posible fluctuación o no durante las diferentes épocas del año.

En la actualidad, el estudio de la grasa parda tanto en murciélagos como en otros mamíferos ha recibido diferentes enfoques, siendo asociada a otras funciones muy importantes, como las relacionadas al sistema inmune. Se ha determinado la presencia de macrófagos, monocitos, células dendríticas, células T, células B, células natural killer y linfoides en la grasa parda (Bertola et al. 2022) y se ha relacionado la presencia de estas células inmunitarias, sumado a los mecanismos de hibernación y torpor, al mantenimiento de ciertos agentes patógenos, por ejemplo, lyssavirus (familia Rhabdoviridae) o flavivirus (familia Flaviviridae) durante extensos períodos sin que el animal presente signos de enfermedad (Calisher et al. 2006), así como se han iniciado estudios para determinar si sucedería lo mismo en importantes patógenos no virales como *Trypanosoma cruzi* y *Bartonella* sp., entre otros (Brook y Dobson 2015).

Con los resultados de estos estudios, se puede deducir la importancia de investigar la presencia, distribución y cantidad de grasa parda en los murciélagos, como también la influencia de variables propias de la especie hacia factores externos ambientales. Por otro lado, para el correcto estudio de la grasa parda se requiere caracterizar macroscópicamente in situ dicho tejido, y corroborar al mismo mediante técnicas de histología, histoquímicas o de microscopía electrónica.

La ciudad de Corrientes cuenta con un clima subtropical, húmedo, con temperaturas promedio anuales de 22 °C, presentando inviernos suaves con pocas heladas (datos obtenidos de la página de la Municipalidad de Corrientes), donde habitan una gran variedad de especies de murciélagos insectívoros (Bastiani et al. 2012, Ruiz et al. 2021) y en los cuales se ha comprobado la circulación de diferentes agentes patógenos como virus rábico (Cornejo 2019) y *Leishmania* sp. (Bastiani et al. 2020). Sin embargo, no existen estudios sobre la grasa parda de quirópteros de nuestra región que nos permita relacionar la presencia de este tejido con la inmunidad frente a diferentes agentes patógenos, por lo tanto, el presente estudio pretende sumar

conocimientos sobre la caracterización de este tejido en diferentes especies de murciélagos que habitan la ciudad de Corrientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio, captura e identificación de los ejemplares. El área de estudio abarcó la zona urbana de la ciudad de Corrientes, identificándose en primera instancia los refugios de los quirópteros, Por otro lado, la identificación de los refugios fue realizada en varias etapas. En primer lugar, con salidas a terreno en horarios diurnos, crepusculares y nocturnos para una localización visual y auditiva como así también para la identificación de sus rastros (guano, manchas características en la pared, olor particular, restos óseos y otros). Luego, en horario crepuscular, se identificaron los lugares (naturales y artificiales) de salida y entrada de los quirópteros y finalmente, con todos los datos recolectados, se identificaron los distintos refugios. Para las capturas, se emplearon redes de niebla o bien, en aquellos lugares donde se pudo acceder a los ejemplares de manera directa, por captura manual. Inmediatamente realizada la captura, los ejemplares fueron trasladados al laboratorio de la cátedra de Salud Pública de la FCV-UNNE empleando para su transporte bolsas de paño suave (una por cada animal) a los efectos de minimizar el estrés producido por la luz y los sonidos del ambiente. De cada ejemplar se registraron datos de edad relativa, sexo y estado reproductivo. La identificación se realizó según las claves de Identificación de Barquez y Díaz (2020). Las capturas se realizaron durante los meses de abril a julio del año 2021.

Localización, identificación y caracterización de grasa parda. Los animales fueron pesados y anestesiados utilizando como protocolo anestésico Ketamina/Xilacina para posteriormente realizar la eutanasia con pentobarbital (Euthanyle) por vía intraperitoneal, respetando las normas de bienestar animal (Los procedimientos aquí efectuados fueron avalados por el Comité de Bienestar Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste (Resolución N° 776/21CS-CODIGO: PI B-006).

La necropsia de los ejemplares estuvo dirigida a tres regiones bien definidas siendo estas la región interescapular, torácica (a la altura de la unión escapulo-humeral) y abdominal. Tras la localización e identificación de la grasa parda de las diferentes regiones, se realizó la caracterización macroscópica de la misma mediante el registro de forma y color. Posteriormente, el tejido caracterizado macroscópicamente como grasa parda fue extraído para su identificación histológica. Para ello, las muestras fueron procesadas con la técnica clásica para bloques parafinados, cortadas en micrótomos tipo Minot en 5 µm de espesor y coloreadas con la técnica de hematoxilina-eosina (HyE). La grasa parda fue identificada teniendo en cuenta sus características histológicas.

RESULTADOS

Se trabajó con 11 ejemplares de murciélagos y se logró la identificación por Familia, género y especies de todos

ellos. Tres (3) especímenes correspondieron a la especie *Dasypterus ega* (familia Vespertilionidae), cuatro (4) a *Eumops patagonicus* y cuatro (4) *Molossus rufus* (familia Molossidae). Del total de animales capturados 2 ejemplares (ambos de la familia Molossidae) fueron juveniles mientras que los 9 restantes (6 de la familia Molossidae y 3 de la familia Vespertilionidae) eran adultos. Por último, en cuanto al sexo y estado reproductivo se observó que, del total de animales capturados, 4 fueron machos y 7 hembras no gestantes.

Localización y caracterización de grasa parda.

En todos los ejemplares analizados, se identificaron tres (3) regiones bien definidas de localización de grasa parda: interescapular, axilar y gonadal. Las dos primeras se observaron inmediatamente por debajo del subcutáneo, la región interescapular en la depresión existente entre ambas escápulas, en dorsal de los músculos supra e infra escapular (Figura 1A) y la axilar ubicada a nivel del borde caudal del humero, sobre la caja torácica. Para la identificación de la grasa gonadal, se realizó previamente la apertura de la cavidad abdominal. El tejido adiposo pardo se localizó a ambos lados del epidídimo, rodeando los testículos en los machos y sobre los ovarios, por detrás de los riñones, en las hembras. No se observó presencia, al menos en cantidades apreciables macroscópicamente, de tejido adiposo pardo en otras regiones.

Se pudo observar una variación de color de la grasa parda según la región de localización, no así entre las diferentes especies. La región interescapular presentó una coloración marrón pardusca de aspecto macizo (similar al color del hígado) mientras que en las regiones axilar y gonadal se observó de color marrón vinoso, traslucido.

En lo que respecta a la forma, la región interescapular presentó una forma trapezoidal en las especies *E. patagonicus* y *M. rufus* (ambos de la familia Molossidae), mientras que en la especie *D. ega* (familia Vespertilionidae) fue más bien de aspecto triangular. Con respecto a las regiones axilar y gonadal, en ambas familias fue de forma irregular, pero con tendencia a la forma circular.

En las tres especies estudiadas, se pudo apreciar que el depósito de grasa parda en la región interescapular fue mayor, seguido de la axilar y por último la gonadal.

Confirmación microscópica de tejido adiposo pardo. Se procesaron 35 muestras de tejido caracterizado macroscópicamente como tejido adiposo pardo, confirmándose la presencia de grasa parda en los tejidos localizados a nivel escapular, axilar y gonadal. Como se aprecia en la Figura 1B, se puede observar los adipocitos pardos con sus núcleos redondos, localizados centralmente y las características vacuolas lipídicas múltiples (flechas), a diferencia de las células adiposas blancas en donde se encuentra una única vacuola ocupando casi la totalidad del citoplasma.

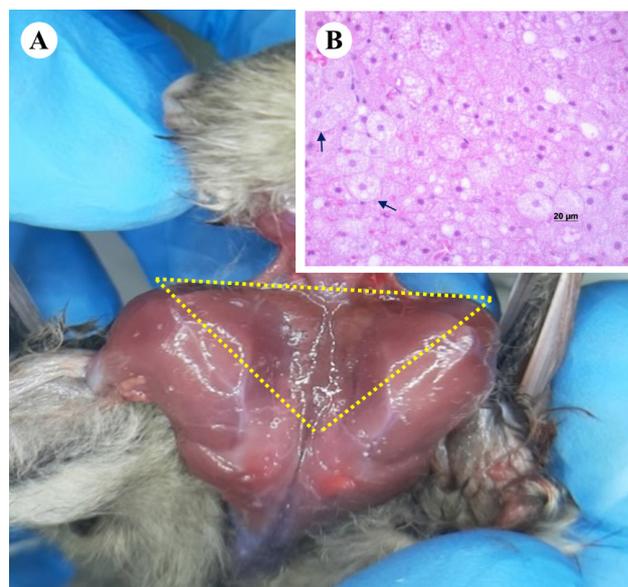


Figura 1. Vista dorsal de ejemplar de murciélago insectívoro. **A:** Apreciación de forma y color de grasa parda interescapular. **B:** Microscopía de tejido adiposo pardo. Tinción con HyE, 40x escala 20 µm, donde se puede observar los adipocitos pardos localizados con múltiples vacuolas lipídicas en el citoplasma que caracterizan a este tejido (flechas).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la presencia de grasa parda en tres especies (*E. patagonicus*, *M. rufus* y *D. ega*) de murciélagos insectívoros que habitan el casco urbano de la ciudad de Corrientes, en el periodo de estudio comprendido entre los meses de abril a julio.

De las tres regiones identificadas en nuestro estudio, el área interescapular fue donde se observó el mayor depósito de tejido adiposo pardo. Este resultado concuerda con estudios realizados en murciélagos insectívoros de las especies *Myotis lucifugus* (Rauch y Hayward 1969), *Pipistrellus hesperus* y *Myotis californicus* (O'Farrell y Schreiweis 1978), quirópteros de áreas frías, donde si bien se observaron diferentes áreas anatómicas de grasa parda, la región interescapular fue la que presentó mayor depósito, esto podría indicar que la grasa parda interescapular no estaría muy influenciada por la temperatura ambiente, al menos en murciélagos de nuestra región, sino más bien, depender de factores asociados a la disponibilidad de alimentos, entre otros.

Con respecto a la caracterización macroscópica, en cuanto a forma, pudimos observar que la grasa parda interescapular, de apariencia lobular, se encuentra formada por dos lóbulos triangulares, de bordes irregulares, unidas por uno de sus lados y cuya unión, da la forma según las especies. En la especie *D. ega* (familia Vespertilionidae) el depósito de grasa interescapular se observó de forma triangular, con base en craneal. En cambio, en las especies *E. patagonicus* y *M. rufus* (familia Molossidae) identificamos un diseño de depósito de grasa parda más bien trapezoidal. Con relación a esto, Johnston y Sealander (1955) observaron una disposición de la grasa parda interescapular de forma triangular en murciélagos de los géneros *Pipistrellus* y

Myotis, ambos de la familia Vespertilionidae, encontrando que dicha disposición se halla en relación directa a la disposición de los músculos escapulares, los cuales forman la fosa o espacio interescapular. Esto podría explicar nuestros resultados en especies pertenecientes a la familia Molossidae, en donde observamos una forma diferente, lo que también fue observado por Dalquest y Werner (1951) en la especie frugívora *Artibeus jamaicensis*, en donde el TAM interescapular presentaba una forma de v cuyo vértice se extendía más allá de la fosa interescapular abarcando parte de la zona lumbar.

Otra característica apreciable en la observación macroscópica de la grasa parda fue el color de este tejido. No encontramos variación de color entre las especies estudiadas, pero si según la región anatómica, observándose una coloración parduzca en el TAM interescapular, mientras que el tejido adiposo pardo de las regiones axilar y gonadal fueron de color marrón oscuro, traslucido. No encontramos antecedentes para verificar esta diferencia en la coloración con trabajos de otros autores, ya que no existen trabajos que hayan caracterizado el tejido adiposo pardo axilar y gonadal en las especies de murciélagos estudiadas. Probablemente, la diferencia radica, en primer lugar, a que la observación se realizó in situ y las estructuras anatómicas adyacentes al tejido adiposo hayan contribuido a la diferencia en la coloración. En segundo lugar, esta diferencia pueda deberse a una mayor vascularización en la región interescapular con respecto a las otras regiones, sin embargo, se necesitarían más estudios para llevar a cabo una conclusión.

Histológicamente, el tejido observado no presentó diferencias entre las tres localizaciones (interescapular, axilar y gonadal), como así tampoco entre las especies estudiadas. En algunos preparados fue posible visualizar tejido correspondiente a glándulas y tejido linfático, esto debido al pequeño tamaño de la muestra de tejido adiposo por lo que, durante la maniobra, se extrajo por arrastre porciones de tejidos adyacentes (Kruttsch y Sulkin 1959).

Los resultados aquí presentados comprueban la presencia de grasa parda en tres especies de murciélagos insectívoros de la ciudad de Corrientes, en un periodo del año en el que se presentan temperaturas promedio de 21°C. En este contexto, son escasos los estudios que guarden similares características con relación a especies y climas. En Sudamérica, resultados similares fueron reportados por Dias (2015) en murciélagos molosidos de la especie *Tadarida brasiliensis*, donde se comprobó la presencia de TAM, independientemente de la estación del año, lo que podría demostrar que, en regiones con climas similares y dentro de la misma familia de murciélagos, factores externos como la temperatura, no influiría de forma directa con la presencia de este tejido en murciélagos subtropicales.

Por otro lado, además de los murciélagos insectívoros mencionados anteriormente, existen especies pertenecientes a otros grupos tróficos donde la presencia de tejido adiposo pardo también se mantiene constante prácticamente durante todo el año, este es el caso del murciélago hematófago *Desmodus rotundus*, de la familia Phyllostomidae (Freitas et al. 2006), quien no posee la capacidad de almacenar grandes cantidades de tejido graso, sin embargo, se ha reportado el importante papel de este tejido como sitio de mantenimiento del virus rábico (Rocha 2018).

Los trabajos más completos de caracterización de grasa parda en murciélagos, en su mayoría, son muy antiguos como puede observarse en algunas citas bibliográficas y los estudios más actualizados contemplan solo ciertas áreas anatómicas en determinadas especies. Dadas las importantes funciones que actualmente se conocen de la grasa parda y el rol vital que esta cumple en los quirópteros, los resultados obtenidos en este trabajo, los cuales representan los primeros datos de murciélagos de nuestra región, suman a la base de conocimiento que permitiría establecer, en futuros trabajos y en conjunto con otras características, el posible rol de la grasa parda y su relación con agentes patógenos en diferentes especies de murciélagos.

Agradecimiento. Agradecemos al personal de las cátedras de Histología y Patología General de la Facultad de Cs. Veterinarias-Universidad Nacional del Nordeste, por su colaboración en el procesamiento histológico de las muestras. Al Sr. Kern, Facundo, quien como becario del grupo de Investigación aportó al presente trabajo con el desarrollo de sus actividades. El presente trabajo forma parte de un Proyecto de Investigación financiado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Cs. Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste.

ORCID

Alegre E.A. elsaal1604@gmail.com,  <https://orcid.org/0000-0001-5005-4654>

Ramirez G.V. aguara1978@gmail.com,  <https://orcid.org/0000-0003-1694-7111>

Salinas F.M. florencia.salinas.marcela@gmail.com,  <https://orcid.org/0009-0006-5804-338X>

Burguener, F. solburguener@gmail.com,  <https://orcid.org/0009-0004-5308-7100>

Ruiz R.M. raquel_monicaruz@hotmail.com,  <https://orcid.org/0000-0002-5404-3570>

REFERENCIAS

1. Arévalo F, Burgos MJ, Del Hoyo N, López-Luna, P. Seasonal variations in the lipid composition of white and brown tissues in the bat *Pipistrellus pipistrellus*. *Comp Biochem Physiol B*. 1990; 95(3): 535-539.
2. Barquez RM, Díaz MM. Nueva guía de los murciélagos de Argentina. Con la colaboración de M. E. Montani y M. J. Pérez. Publicación Especial N° 3. PCMA (Programa de Conservación de los Murciélagos de Argentina), San Miguel de Tucumán. 2020; 186 pp.
3. Bastiani, CE, Ramírez NN, Alegre EA, Ruiz RM. Identificación y caracterización de refugios de quirópteros en la Ciudad de Corrientes, Argentina. *Rev. Vet.* 2012; 23(2): 104-109.
4. Bastiani CE, Ruiz RM, Alegre EA, Ramírez GV, Salinas FM. Detection of Natural Infection by *Leishmania* sp. in Bats (Chiroptera, Mammalia) that Inhabit the City of Corrientes, Argentina. *Bull Soc Pathol Exot*, 2020; 113(2): 63.

5. Bertola A, Gallerand A, Ivanov S. Immune cell involvement in brown adipose tissue functions. *Discov Immunol.* 2022; 1(1): 007.
6. Brook CE, Dobson AP. Bats as 'special' reservoirs for emerging zoonotic pathogens. *Trends in microbiology.* 2015; 23(3): 172-180.
7. Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol.* 2006; 19(3): 531-545.
8. Cornejo TA. Estudio retrospectivo de rabia en murciélagos insectívoros, en la provincia de Río Negro 1997-2018 (Tesis doctoral, Universidad Nacional de la Pampa). 2019. p. 38.
9. Dalquest WW, Werner HJ. The interscapular gland of a tropical fruit bat. *Anat Rec.* 1951; 111(3): 345-353.
10. Dias, KS. Variação sexual e sazonal do tecido adiposo no morcego insetívoro *Tadarida brasiliensis*, no extremo sul do Brasil. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2015.
11. Ewing WG, Studier EH, O'farrell MJ. Autumn fat deposition and gross body composition in three species of *Myotis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1970; 36: 119-129.
12. Freitas MB, Welker AF, Pinheiro EDC. Seasonal variation and food deprivation in common vampire bats (Chiroptera: Phyllostomidae). *Braz J Biol.* 2006; 66: 1051-1055.
13. Johnston PM, Sealander JA. Normal Histology of Brown Fat of Certain Arkansas Bats. *J Ark Acad Sci.* 1955; 7(1): 50-54.
14. Krutzsch PH, Edward Sulkin S. The anatomical distribution of the interscapular and parotid glands of the insectivorous bats *Tadarida*, *Myotis* and *Pipistrellus*. *Anat Rec.* 1959; 134(3): 397-409.
15. Medellín RA, Arita HT, Sánchez O. Identificación de los Murciélagos de México. Clave de Campo. Segunda edición. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México. 2007.
16. Miotti MD, Mollerach MI, Mangione S. Bases morfológicas de un fenómeno: Torpor vs hibernación en murciélagos. *Rev Argent Cienc Comport.* 2016; 8(2): 35-36.
17. Miotti MD. Variaciones latitudinales en los patrones reproductivos de cuatro especies de murciélagos frugívoros de las yungas argentinas. Publicaciones Especiales N° 5, PIDBA (Programa de Investigaciones de Biodiversidad Argentina. 2020. 121pp: 99-100.
18. Municipalidad de Corrientes. Características de la ciudad de Corrientes. Disponible en: <https://ciudaddecorrientes.gov.ar/caracteristicas-de-la-ciudad-de-corrientes>
19. O'Farrell MJ, Schreiweis DO. Annual brown fat dynamics in *Pipistrellus hesperus* and *Myotis californicus* with special reference to winter flight activity. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 1978; 61 (3): 423-426.
20. Rauch JC, Hayward JS. Topography and vascularization of brown fat in a hibernator (little brown bat, *Myotis lucifugus*). *Can J Zool.* 1969; 47(6): 1315-1323.
21. Rocha F. Vigilancia e controle da raiva em herbívoros sob aspectos da biologia do *Desmodus rotundus* (E. GEOFFROY, 1810) e da circulação do vírus da raiva em populações susceptíveis relacionadas às ações do serviço veterinário oficial (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo) 2018. p. 24.
22. Ruiz RM, Alegre EA, Ramírez GV. Detección de leishmania en tejido medular de murciélagos y roedores de zona endémica a leishmaniasis canina en Corrientes, Argentina. *Rev. Vet.* 2021; 32(1): 31-36.
23. Sulkin SE, Krutzsch PH, Allen R, Wallis C. Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats: I. Role of brown adipose tissue. *J Exp Med.* 1959; 110(3): 369-388.
24. Wells HJ, Makita M., Wells WT, Krutzsch, PH. A comparison of the lipid composition of brown adipose tissue from male and female bats (*Myotis lucifugus*) during hibernating and non-hibernating seasons. *Biochim. Biophys. Acta.* 1965; 98(2), 269-277.