

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFORME FINAL DEL SERVICIO SOCIAL LEGAL

**DETERMINACIÓN DE ANALÍTOS HEPÁTICOS EN TONINAS (*Tursiops truncatus*) EN
CAUTIVERIO Y SU RELACIÓN CON HEPATOPATÍAS INESPECÍFICAS**

Prestador del Servicio Social:

Francisco Javier Pérez Rodríguez

Matrícula: 209325815

Asesor Interno:

MVZ, M. Sc. Fernando Gual Sill

Número económico: 33638

Asesora Externa:

MVZ María Concepción López Romahn

Cédula Profesional: 2308909

Lugar de Realización:

Instituto Vía Delphi, Parque Xcaret, Carretera Chetumal-Puerto Juárez km 282, Playa del Carmen, Quintana Roo.

Periodo de realización:

Del 8 de noviembre del año 2014 al 7 de mayo del año 2015.

ÍNDICE	PÁGINA
1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1 Generalidades de <i>Tursiops truncatus</i>	4
3.2 Hábitos alimenticios	4
3.3 Distribución geográfica.....	4
3.4 Estatus nacional e internacional	5
3.5 Importancia	5
3.5.1 Ecológica.....	5
3.5.2 Educativa	5
3.6 Estudios hematológicos	6
3.7 Hepatopatías.....	6
3.8 Marcadores hepáticos.....	7
3.8.1 Importancia clínica de las Aminotransferasas	7
3.8.2 Interacción con otros analitos.....	7
4. OBJETIVOS	8
4.1 Objetivo General.....	8
4.2 Objetivos Específicos.....	8
5. METODOLOGIA UTILIZADA.....	8
6. ACTIVIDADES REALIZADAS	9
6.1 Análisis de casos históricos dentro de los delfinarios de Delphinus.....	9
6.2 Capacitación técnica	9
6.3 Programa de monitoreo semanal.....	10
6.4 Investigación bibliográfica y diagnóstico presuntivo.....	10
7. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS.....	10
8. RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	10
9. RECOMENDACIONES	16
10. LITERATURA CITADA.....	17
11. ANEXOS.....	24

1. RESUMEN

A pesar de que existen múltiples estudios de alteraciones hepáticas en toninas, un factor que dificulta severamente el diagnóstico es que tales afectaciones pueden o no cursar con cuadros sintomáticos y cuando esto llega a suceder, la signología es inespecífica. Una de las principales patologías a las que se ha asociado el incremento de la concentración sanguínea de estos analitos es la hemocromatosis, la cual se caracteriza por una sobrecarga excesiva y acumulativa de hierro en los hepatocitos con un subsecuente incremento sérico de aminotransferasas, GGT, LDH, bilirrubinas totales y globulinas, así como la disminución de albúmina y plaquetas; todo esto como consecuencia del daño hepatocelular.

Se determinó la concentración sérica de analitos asociados a la función hepática en un grupo de 12 toninas (*Tursiops truncatus*) en cautiverio nombrado 'Delfines hepáticos', resguardados en los delfinarios de la empresa Delphinus ubicados en la Riviera Maya, obteniendo los siguientes promedios: ALT: 234 U/L (28-60 U/L), AST: 599 U/L (190-300 U/L), GGT: 504 U/L (21-48 U/L), LDH: >500 U/L (350-500 U/L), Hierro: 328 µg/L (92-300 µg/L) y Globulina: 36 g/L (21-31 g/L). También se determinó la concentración de Albúmina: 36 g/L (39-49 g/L), Bilirrubina total: <1.7µmol/L (1.7-3.4 µmol/L) y Plaquetas: 8x10⁹/L (80-150 x10⁹/L). Los aumentos en ALT, AST, GGT, LDH, hierro e hiperglobulinemia, así como la hipoalbuminemia, hipobilirrubinemia y trombocitopenia, hace sospechar que el grupo de estudio cursa con Hemocromatosis.

2. INTRODUCCIÓN

La tonina o delfín nariz de botella es un mamífero marino de distribución mundial. Se le considera un indicador biológico del estado de salud de un ecosistema y a su vez de la productividad de este. (Serrano *et al*, 2007; Urbán y Guerrero, 2008).

Al ser una especie de rápida adaptación a la vida en cautiverio, aunado a su alta capacidad de aprendizaje y facilidad de captura, el estudio de su biología, etología y fisiología se ha facilitado, así como su utilización para fines de exhibición, terapéutico y como carnada para la pesca del tiburón (Díaz, 2003; Wells y Scott, 2009).

Quintana Roo se caracteriza por ser uno de los estados de México que cuenta con la mayor cantidad de delfines mantenidos en cautiverio (Chan, 2015) y es este mismo

estado, el que ofrece la mayor interacción con éstos animales. La empresa Delphinus, a través de grupo Vía Delphi, sabiendo la necesidad de preservar esta especie, creó el Instituto Vía Delphi para la Investigación de los Mamíferos Acuáticos A.C., el cual busca preservar y aumentar la población de delfines, así como promover la investigación multidisciplinaria con mayor énfasis al aspecto clínico.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Generalidades de *Tursiops truncatus*.

El delfín nariz de botella, delfín mular, delfín negro, tonina o tursión (*Tursiops truncatus*, Montagu, 1821) es un mamífero marino de tamaño mediano que pertenece al orden *Cetacea*, suborden *Odontoceti* y a la familia *Delphinidae*. Es la especie más estudiada de todos los odontocetos. Morfológicamente se identifica fácilmente gracias a que posee una frente redonda denominada melón y una nariz de `botella_ formada a partir de la elongación de la mandíbula y el maxilar (Rommel y Lowenstine, 2001; Urbán y Guerrero, 2008; Wells y Scott, 2009). Esta especie es una de las más grandes, su cuerpo es gris excepto en la región ventral, pues ésta es de color blanquecino o incluso rosado, sin embargo, se han observado variaciones morfológicas según su ubicación geográfica (Sapoznikow A., *et al.*, 2002; Turner y Worthy, 2003; Urbán y Guerrero, 2008; Duras *et al.*, 2014; Vilorio y Medrano, 2015).

3.2 Hábitos alimenticios

A pesar de ser una especie omnívora, en vida libre su dieta se basa en peces como arenque, sardina, calamar, capelín, macarela, anchoveta, pequeños crustáceos, inclusive algunos peces pelágicos. Las toninas tienen muy bien establecidas sus técnicas de pesca, ya que forman agrupaciones y en conjunto se alimentan en eventos que llegan a durar 1 hora. Cuando se encuentran en cautiverio su dieta puede verse restringida, ya que esta se basa exclusivamente en pescados completos y en ocasiones eviscerados suministrados 3 o 4 veces por día (Gallego P., 2000; Brook *et al.*, 2001; Carrillo *et al.*, 2005).

3.3 Distribución geográfica

Se trata de una especie cosmopolita, puede encontrarse en aguas templadas, ya sea en mares tropicales, costas, estuarios, mar abierto, incluso en ríos (Rice, 1998; Bloch y Mikkelsen, 2000; Wells y Scott, 2009). En México se ha reportado avistamientos de esta

especie en todas las costas del país (Urbán y Guerrero, 2008; Waring *et al.*, 2012; Vilorio y Medrano 2015), aunque se desconoce el estado de las poblaciones debido a la falta de estudios completos que aporten información demográfica (Valdes *et al.*, 2011).

3.4 Estatus nacional e internacional

En el año 2010 la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales emitió la norma NOM-059-SEMARNAT-2010, en la cual se clasifica al delfín nariz de botella como especie no endémica y Sujeta a Protección Especial (Pr) lo que indica que podría llegar a encontrarse amenazada por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se determina la necesidad de propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas. Del mismo modo, ésta especie se encuentra en el Apéndice II de la CITES y desde el año 2006 están reguladas todas las actividades de importación, exportación y reexportación temporal o definitiva; captura para investigación, transporte, exhibición, manejo y manutención de mamíferos marinos a través de los Artículos 55 bis y 60 bis de la Ley General de Vida Silvestre; así mismo es de observancia general y obligatorio para el Instituto Vía Delphi y para toda persona física y moral que lleve a cabo las actividades mencionadas, apegarse a los lineamientos establecidos en la Norma NOM-135-SEMARNAT-2004.

3.5 Importancia

3.5.1 Ecológica

Las toninas al igual que otros cetáceos suelen utilizarse como un indicador biológico del estado de salud de un ecosistema y a su vez de la productividad del mismo. Algo muy relevante que no se suele considerar es que una vez que mueren, se realizan modificaciones en el medio marino y a través de esto se reactiva el ciclo de nutrientes en áreas poco productivas. Sirven como fuente de alimento para animales terrestres en casos de varamientos o de animales bentónicos, incluso para parásitos y comensales como aves y peces que se alimentan junto a ellos (Lynn *et al.*, 2001; Serrano *et al.*, 2007; Urbán y Guerrero, 2008).

3.5.2 Educativa

En México, el aprovechamiento de esta especie sólo se permite con fines científicos (Valdes *et al.*, 2011). Gracias a los programas de concientización, preservación y al conocimiento científico generado, ha sido posible mantener exitosamente en cautiverio a

miles de animales desde hace muchos años llegando punto en que se ha logrado reproducir a la especie y se ha incrementado la tasa de sobrevivencia, sobrepasando en ocasiones a la de las poblaciones salvajes (Urbán y Guerrero, 2008; Wells y Scott, 2009).

3.6 Estudios hematológicos

La sangre está compuesta por el plasma y los elementos formes. El plasma es un líquido en el cual están suspendidos o disueltos células, plaquetas, compuestos orgánicos y electrolitos. Estos representan el 10% y el otro 90% está constituido por agua. Los elementos formes están representados por glóbulos rojos o eritrocitos y por glóbulos blancos o leucocitos. (Mayers, 1998; Sánchez, 2010).

En la actualidad, los rangos normales de Biometría hemática y Química sanguínea han sido establecidos para la mayoría de los delfines y gracias a la información obtenida, ha sido posible monitorear su estado de salud en cautiverio; sin embargo, en vida libre, este tipo de información es limitada (Mayers, 1998; Fair *et al.*, 2006; Venn-Watson, 2012).

A través de la química sanguínea es posible determinar los componentes no celulares del plasma o del suero (principalmente); esto incluye un amplio rango de electrolitos, hormonas, macromoléculas, incluidas ciertas proteínas que actúan como catalizadores biológicos, las enzimas (Mayers, 1998; Quiróz *et al.*, 2007; Sánchez, 2010). Entre las enzimas que se pueden identificar en el suero se encuentra la amilasa, lipasa, Alanina aminotransferasa (ALT), Aspartato aminotransferasa (AST), Gama glutamiltransferasa (GGT), Fosfatasa alcalina sérica (FAS) y Lactato deshidrogenasa (LDH).

3.7 Hepatopatías

A lo largo de las últimas décadas, ha sido posible identificar que, tanto en cautiverio como en vida libre, la tonina o delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) es susceptible a hepatopatías inespecíficas o Síndrome de enfermedad hepática (Bossart *et al.*, 2001; Sorensen *et al.*, 2008; Venn-Watson *et al.*, 2008; 2012; Dold, 2015). Aunque se han descrito varias causas, su diagnóstico sigue siendo un dilema, ya que no se ha determinado una etiología específica. Actualmente se han reportado hepatopatías originadas por virus, bacterias, parásitos, hongos, enfermedades autoinmunes, por deficiencias nutricionales, por alteraciones metabólicas, intoxicaciones, incluso se han descrito causas hereditarias (Bossart

et al., 2001; Gianini *et al.*, 2005; Sorensen *et al.*, 2008; Venn-Watson *et al.*, 2008; 2011-b; 2012; 2013; Phillips *et al.*, 2014).

3.8 Marcadores hepáticos

Luego de múltiples estudios, ha sido posible identificar y clasificar ciertos marcadores o indicadores de desórdenes hepatobiliares y a los cuales se les ha relacionado directamente con cambios bioquímicos séricos que se dan durante un proceso patológico. A este grupo pertenecen los analitos ALT, AST, GGT, LDH y ALKP (Alanino aminotransferasa, Aspartato aminotransferasa, Gama glutamiltransferasa, Lactato deshidrogenasa y Fosfatasas alcalina, respectivamente), sin embargo, sólo la aminotransferasa ALT se considera específica de daño hepatocelular en delfines nariz de botella y este mismo analito ayuda a establecer la magnitud del daño (Bossart *et al.*, 2001; Venn-Watson *et al.*, 2008; 2011; Dold, 2015).

3.8.1 Importancia clínica de las Aminotransferasas

Las aminotransferasas son enzimas que catalizan la transferencia de alanina del ácido alfa-cetoglutarico o de grupos amino del ácido aspártico durante la gluconeogénesis. Desde el punto de vista clínico, la ALT y AST son consideradas un excelente marcador de lesión hepatocelular cuando los niveles séricos se encuentran incrementados (Jiménez *et al.*, 2010). El incremento sérico de las aminotransferasas se debe a la circulación en plasma del contenido enzimático producto del daño hepatocelular, sin embargo, esta alteración puede verse controlada también por procesos de regeneración hepática (García y Zurita, 2012).

Son muchos los autores que han identificado incrementos de ALT y AST en delfines nariz de botella (Bossart *et al.*, 2001; Sorensen *et al.*, 2008; Clauss y Paglia, 2012; Mazzaro L. *et al.*, 2012; Venn-Watson *et al.*, 2008; 2012; Jaber *et al.*, 2013; Dold, 2015), sin embargo, aun cuando la ALT se considera un analito específico de daño hepático en esta especie, se deben considerar otros componentes sanguíneos para lograr un diagnóstico acertado (Mayers, 1998; Bossart *et al.*, 2001). Actualmente ha sido posible relacionar el incremento de ALT, AST, GGT y LDH con otros analitos de interés clínico como el hierro (Sorensen *et al.*, 2008; Venn- Watson, 2008; 2011a).

3.8.2 Interacción con otros analitos

Existen varios estudios donde se han descrito alteraciones de ALT y AST asociadas con incrementos de hierro sérico, el cual, además de ser considerado un marcador de

inflamación, se asocia con hepatopatías por sobrecarga del mismo. Entre las principales patologías derivadas de la alteración o sobrecarga de hierro sérico, se encuentra la hemosiderosis y la hemocromatosis (Bossart *et al.*, 2001; Venn-Watson *et al.*, 2008; 2011-a; Mazza *et al.*; 2012; Dold, 2015).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- Emitir un diagnóstico presuntivo que explique las variaciones de la concentración sérica de analitos hepáticos en toninas en cautiverio en los delfinarios de Delphinus.

4.2 Objetivos Específicos

- Realizar un análisis retrospectivo dentro de la plataforma SANO para identificar a los individuos que han mostrado alteraciones en la concentración sérica de analitos hepáticos en los tres delfinarios de la empresa Delphinus.
- Adquirir conocimientos y destrezas para la correcta conservación y manejo de las muestras sanguíneas recolectadas.
- Desarrollar las habilidades necesarias en la operación y manejo del equipo y materiales del laboratorio de diagnóstico.
- Implementar un plan de monitoreo mediante muestreo y análisis hematológico y bioquímico semanal en los delfines identificados con alteraciones hepáticas.
- Con base en los resultados obtenidos y la bibliografía, llegar a un diagnóstico y plantear un plan de diagnóstico complementario basado en pruebas específicas.
- Conocer y apoyar en las distintas actividades de la medicina y el manejo de la tonina / nariz de botella (*Tursiops truncatus*) dirigidas a mantener la salud y el bienestar de esta especie en cautiverio

5. METODOLOGÍA UTILIZADA

A lo largo de seis semanas, se monitoreó semanalmente a 12 delfines provenientes de los cuatro delfinarios pertenecientes a Delphinus. El grupo de estudio se denominó como *‘Delfines Hepáticos_’*, dado que el criterio de selección se basó en los resultados de los análisis sanguíneos semestrales realizados previamente como parte del control médico preventivo, donde se identificaron alteraciones en ALT, AST, Hierro, GGT y LDH. Se obtuvieron tres muestras de sangre periférica de cada individuo mediante entrenamiento por condicionamiento operante o *‘Husbandry training_’* como recomienda Sweeney *et al.* (2003).

La técnica de venopunción se basó en la descrita por Bossart *et al.* (2001). Se evaluó Biometría hemática incluido el conteo diferencial, bajo la técnica recomendada por Núñez (2007) y León (2013). El análisis de la química sanguínea se realizó en un analizador automatizado de química seca Marca Ortho[™]Clinical Diagnostics (Johnson & Johnson), modelo *VITROS DT60 II*, donde se determinaron los analitos: Glucosa, Nitrógeno Ureico, Colesterol, Triglicéridos, Creatinina, Proteínas totales, Albúmina, Globulinas, Relación Albúmina/Globulina, Bilirrubina total, Creatina quinasa, Hierro, Aspartato aminotransferasa, Alanino aminotransferasa, Gama glutamiltranspeptidasa, Lactato deshidrogenasa y Fosfatasa alcalina. Se determinó Hematocrito, Hemoglobina y Plaquetas con un analizador hematológico automatizado marca *MINDRAY*, modelo BC[™]3200; el Hematocrito se corroboró con la técnica descrita por Fair *et al.* (2006). La Velocidad de Sedimentación Globular se hizo de acuerdo a la técnica de referencia Westergreen[™] descrita por Lemus y Villaseñor (2009). Todos los resultados obtenidos se concentraron en una plataforma digital que permite la administración de los ejemplares, así como la generación de una base de datos interna en el micrositio SANO[©] (sano.delphinus.com.mx). Para el análisis de resultados se manejó el promedio semanal grupal de todas las determinaciones debido a que todos los individuos, salvo aisladas excepciones, presentaron siempre variación en los mismos analitos.

6. ACTIVIDADES REALIZADAS

6.1 Análisis de casos históricos dentro de los delfinarios de Delphinus.

De acuerdo con los antecedentes registrados en reportes anteriores que mostraron variaciones anormales de distintos analitos durante los programas de Medicina Preventiva realizados semestralmente dentro de los delfinarios, se revisó el historial médico de los individuos albergados en la plataforma SANO. Se identificaron 12 individuos con alteraciones hepáticas; a partir de esto se formó el grupo de estudio *Delfines Hepáticos*.

6.2 Capacitación técnica.

Como parte del programa de estancia de Servicio Social realizado dentro del Departamento de Veterinaria y para la elaboración de este proyecto, fue indispensable recibir una capacitación técnica orientada principalmente a las actividades propias del área de Diagnóstico. Tales actividades y procedimientos son: manejo y operación de equipos automatizados, preparación, lavado y almacenaje de materiales de laboratorio, asistencia en la colecta de muestras biológicas representativas, llenado de reportes físicos y digitales.

6.3 Programa de monitoreo semanal

El plan de monitoreo semanal consistió en obtener, de los *Delfines Hepáticos* cada lunes durante seis semanas, 3 muestras de sangre periférica: una muestra en un tubo con EDTA, otra muestra sin anticoagulante y la tercera muestra con Citrato de sodio. Todas las muestras recolectadas fueron enviadas inmediatamente al Laboratorio de Diagnóstico del Instituto Via Delphi para la Investigación de los Mamíferos Acuáticos A.C, ubicado dentro del delfinario Riviera Maya en el Parque Xcaret. Con la muestra conservada con EDTA se realizó la medición de Hematocrito, un frotis para realizar el conteo diferencial de Leucocitos, y se hizo el conteo total de Glóbulos Rojos y Glóbulos Blancos. La muestra conservada con citrato de sodio se utilizó para estimar la Velocidad de Sedimentación Globular VSG. Y, por último, la muestra conservada sin anticoagulante se empleó para hacer la determinación de la Química sanguínea. Todos los resultados obtenidos fueron registrados física y digitalmente, en una bitácora y en la plataforma SANO, respectivamente, con el fin de disponer de la información permanentemente y poder comparar las variaciones de las determinaciones cada semana.

6.4 Investigación bibliográfica y diagnóstico presuntivo

Una vez recopilada la información dentro de la plataforma SANO, se realizó una revisión bibliográfica con el fin de sustentar la implicación de los hallazgos clínicos con la hemocromatosis como principal factor participante en el Síndrome de enfermedad hepática presentado por los 12 individuos del grupo Delfines Hepáticos.

7. OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

- Derivado del monitoreo en SANO, fue posible identificar a 12 ejemplares que presentaba alteraciones en los intervalos de referencia para Química sanguínea, específicamente mostraban incrementos en ALT, AST, Hierro, GGT y LDH, los cuales, según la bibliografía, se consideran indicadores hepáticos, por lo que se inició un plan de muestreo, cuya duración fue de 6 semanas, muestreando los días lunes.
- Se logró desarrollar las habilidades y aptitudes necesarias en la operación y manejo del equipo y materiales del laboratorio empleadas para la determinación de biometría hemática y bioquímica sanguínea.
- Luego de la implementación del plan de monitoreo sanguíneo, del que se obtuvieron un total de 72 muestras, fue posible identificar alteraciones en diferentes

analitos incluyendo: ALT, AST, GGT, LDH, Hierro, Globulinas, Albúmina, y Plaquetas. Dichas alteraciones se relacionaron con la hemocromatosis

- Cabe mencionar que todos los resultados se agruparon y promediaron para su estudio debido a que todos los individuos presentaron la misma variación en los analitos hepáticos.
- Se obtuvieron y aplicaron los conocimientos necesarios para lograr emitir un diagnóstico presuntivo y aun cuando no fue definitivo, se propusieron tres pruebas específicas, las cuales sirven como herramientas diagnósticas: Capacidad Total de Fijación de Hierro, Índice de Saturación de Transferrina y Ferritina sérica.

8. RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se analizaron un total de 72 muestras obtenidas del grupo Delfines Hepáticos entre el mes de agosto y octubre de 2014. Del total de muestras analizadas, se calculó el resultado promedio semanal y final de los valores de Química sanguínea y Biometría hemática (Ver Cuadro A. Resultados y promedios semanales. Anexo 1). En el Cuadro 1 se muestran los analitos y valores que mostraron alteraciones. Se observó que todos los individuos del grupo tuvieron aumento de ALT, AST, Hierro, GGT, LDH e hiperglobulinemia, mientras que se detectó hipoalbuminemia, hipobilirrubinemia y trombocitopenia. No fue posible la cuantificación exacta de LDH y Bilirrubina; en el caso de esta última, la concentración se mantuvo siempre por debajo del rango mínimo de detección del equipo de medición utilizado. Para LDH, la concentración fue tan alta que sobrepasó el límite máximo de cuantificación; en casos como éste, lo recomendable es hacer una dilución de la muestra, para poder reanalizarla y obtener un valor que permita calcular la concentración real del analito, sin embargo, por políticas internas del manejo de muestras en el laboratorio, esto no se realizó.

Cuadro 1. Variaciones en los promedios Hematológicos y Químicos sanguíneos en el grupo `Delfines Hepáticos_ durante seis semanas (Ago-Oct 2014).

VALORES EXPRESADOS EN SI	INTERVALO DE REFERENCIA	SEMAN A 1	SEMAN A 2	SEMAN A 3	SEMAN A 4	SEMAN A 5	SEMAN A 6	PROMEDIO FINAL
ALT (U/L)	28-60 ^A	223	229	221	249	236	247	234
AST (U/L)	190-300 ^A	643	671	611	629	562	476	599
HIERRO (µG/L)	92-300 ^B	316	331	335	319	332	335	328
GGT (U/L)	21-48 ^B	430	448	434	470	644	597	504
LDH (U/L)	350-500 ^A	>R*	>R*	>R*	>R*	>R*	>R*	>R*
GLOBULINAS (G/L)	21-31 ^B	37	37	37	36	35	36	36
ALBÚMINA (G/L)	39-49 ^B	36	35	35	37	37	38	36
BIL. T (µMOL/L)	1.7-3.4 ^B	<R**	<R**	<R**	<R**	<R**	<R**	<R**
PLAQUETAS (X10 ⁹ /L)	80-150 ^A	70	85	74	78	84	75	78

ALT= Alanino aminotransferasa
 AST= Aspartato aminotransferasa
 GGT= Gama glutamiltranspeptidasa
 LDH= Lactato Deshidrogenasa
 Bil. T= Bilirrubina total
 >R= Mayor al rango de cuantificación
 <R= Menor al rango de cuantificación

^A Intervalo tomado de Bossart *et al.*, 2001

^B Intervalo tomado de Venn-Watson *et al.*, 2008

*Rango dinámico de cuantificación= 100 a 1750 U/L VITROS DT60 II

**Rango dinámico de cuantificación= 1.71 a 342 µmol/L VITROS DT60 II

Existen varias patologías a las que se ha asociado el incremento de Aminotransferasas y Hierro en toninas, sin embargo, existe una en particular que se presenta de manera asintomática y es muy común que se identifique mediante un examen sanguíneo de rutina: la hemocromatosis. Ésta se considera una patología crónica y se caracteriza por mostrar incrementos progresivos de hierro y la consecuente alteración de los niveles de ALT y AST. Dicha patología también se denomina `Enfermedad por Sobrecarga de Hierro_ o por sus siglas en inglés IOD (Iron Overload Disease) (Clauss y Paglia, 2012; Mazzaro *et al.*, 2012; Venn-Watson *et al.*, 2012; 2013). La tonina es susceptible a hemocromatosis y esto ha sido evidenciado gracias a múltiples estudios hechos tanto en delfines en cautiverio, como en vida libre (Venn-Watson *et al.*, 2011-a; Clauss y Paglia, 2012; Phillips *et al.*, 2014). Como consecuencia de la sobrecarga y acumulación de hierro a nivel hepatocelular, se producen radicales libres que modifican la permeabilidad de la membrana del hepatocito provocando inflamación local y la subsecuente ruptura y liberación de las enzimas ALT y AST al plasma (Bacon y Briton; 1990; García y Zurita, 2012). Cuando el daño se vuelve crónico, pueden presentarse lesiones como degradación hepatocitaria, daño en conductos biliares, fibrosis en áreas periportales, cirrosis e incluso destrucción celular (Bossart *et al.*, 2001; Gianini *et al.*, 2003; Jaber *et al.*, 2013); este tipo

de lesiones se han descrito en toninas y se han asociado con incrementos de GGT y LDH (Venn-Watson *et al.*, 2008; Johnson *et al.*, 2009). La GGT al ser una enzima de inducción, aumenta su actividad por efecto del daño hepatocitario y del epitelio de los conductos biliares (Bein, 2005; Jaber *et al.*, 2013), mientras que la LDH es una enzima que se libera al existir daño crónico o muerte hepatocelular. Bein (2005), Fernández *et al.* (2008) y Sorensen *et al.* (2008) afirman que, en conjunto con el aumento en la concentración de analitos hepáticos como ALT, AST y GGT, se puede evidenciar la presencia de daño crónico.

El incremento en la concentración de las Proteínas Plasmáticas, específicamente de Globulinas, se ha relacionado directamente con la hemocromatosis y con otras enfermedades hepáticas crónicas, como cirrosis hepática, colangiohepatitis y colangitis (Bossart *et al.*, 2001; Evans *et al.*, 2005; Venn-Watson *et al.*, 2011; 2012). Existe una fracción de globulinas denominada Beta-globulinas y dentro de este grupo se encuentra la Transferrina, la cual destaca por su implicación clínica en el metabolismo del hierro, debido a que se encarga de transportar hierro absorbido a nivel intestinal hacia depósitos de ferritina localizados en células parenquimatosas de diversos órganos, principalmente a los hepatocitos, más del 30% del hierro disponible en el organismo se encuentra almacenado de esta forma. La sobrecarga de hierro afecta directamente la concentración plasmática de globulinas (Hiperglobulinemia), ya que es necesario que se sinteticen más Transferrinas para movilizar el hierro excedente hacia los depósitos de ferritina (Prochazka y Tagle, 2006; Mazzaro *et al.*, 2012).

Otra Proteína Plasmática asociada a hepatopatías, es la Albúmina. Su importancia clínica radica en que es sintetizada en el hígado, por lo que, al existir daño funcional, su producción se ve disminuida (Prochazka y Tagle, 2006; Venn-Watson *et al.*, 2008), lo que respalda la presencia de Hipoalbuminemia en el grupo `delfines hepáticos` del presente estudio. Aun cuando la hipoalbuminemia no se considera un indicador específico de insuficiencia hepática, en hepatopatías crónicas; como colestásis crónica y cirrosis, ésta suele ir acompañada de hiperglobulinemia (con predominio de β -globulinas) (Bein, 2005). En estudios realizados por Venn-Watson *et al.*, (2008; 2011; 2012) se compararon muestras sanguíneas de delfines nariz de botella sanos con un grupo de delfines diagnosticados con hemocromatosis y entre la signología clínica descrita, se encontraba hiperglobulinemia e hipoalbuminemia.

La Bilirrubina es un componente amarillento derivado del catabolismo de la hemoglobina producido por macrófagos luego de la degradación del grupo *hemo* proveniente de eritrocitos `viejos`. Cuando los niveles de bilirrubina sérico aumentan, ya sea por destrucción acelerada de eritrocitos y/o por obstrucción intra o extrahepática (fibrosis, colestásis, cirrosis o colangiohepatitis) es posible observar cambios en la coloración del suero notándose `ictérico` (Bossart *et al.*, 2001). Actualmente se conoce el metabolismo de la bilirrubina y se sabe que existe una fracción conjugada o directa y una no conjugada o indirecta y que, a partir de estas dos mediciones, es posible determinar la bilirrubina total (Bein *et al.*, 2005; Gianini *et al.*, 2015). El uso de estos indicadores puede ayudar a orientar el origen del daño durante el desarrollo de las hepatopatías, ya sea intra o extrahepático. Bossart *et al.* (2001), han relacionado, en delfines nariz de botella, el incremento de bilirrubina total con la presencia de cirrosis o colangiohepatitis. En un estudio realizado por Venn-Watson *et al.*, (2008), se encontró que en 6 de 18 toninas que mostraban alteraciones en ALT, AST, Hierro, GGT y otros analitos asociados con hepatopatías obstructivas, como colestasis, fibrosis, cirrosis, colangitis y colangiohepatitis, era más probable encontrar incrementos en bilirrubina en comparación con los controles sanos (12 ejemplares); aun cuando en dicho estudio los niveles de bilirrubina no sobrepasaban el límite máximo de referencia, se asoció la presencia de lesiones hepáticas leves y moderadas, a la necropsia, con el incremento moderado en la concentración sérica de bilirrubina total.

Un hallazgo hematológico importante es la trombocitopenia, Lu *et al.*, (2006) señalan que dicha alteración sirve como un indicador de hepatitis crónica con el subsecuente desarrollo de cirrosis en delfines. Venn-Watson (2008), estudiando una población de delfines en cautiverio que mostraba incrementos en analitos hepáticos, encontró conteos plaquetarios por debajo del rango normal de referencia. Trotter (2006) señala que la disminución de la síntesis de Trombopoyetina (citoquina responsable de la síntesis de plaquetas en médula ósea) es consecuencia de la alternación patológica de la función hepática.

Con base en los resultados y de acuerdo a la bibliografía, se atribuye, presuntivamente, que los incrementos séricos de Hierro, ALT, AST, Globulinas, GGT, LDH, Colesterol y la disminución de Albúmina y Plaquetas, son causados por Hemocromatosis. Sin embargo, para llegar a un diagnóstico definitivo, es preciso realizar otras pruebas específicas, como la determinación de la Capacidad Total de Fijación de Hierro, Índice de Saturación de

Transferrina y Ferritina sérica, como lo sugieren Clauss y Paglia (2012) y Mazzaro *et al.* (2012).

Hasta el momento, no se ha podido identificar el agente etológico que cause la Hemocromatosis, por lo que se sigue considerando de origen inespecífico (Venn-Watson *et al.*, 2012). Con base en el antecedente de Venn-Watson *et al.* (2011a) donde atribuyen el desarrollo de hemocromatosis en humanos a causa de una mutación del gen HFE (resultando en el gen C282Y), Phillips *et al.*, (2014) secuenciaron ese mismo gen presente en delfín nariz de botella, con la finalidad de evaluar la posibilidad de una predisposición genética para la presencia de hemocromatosis en esta especie. La importancia del gen HFE reside en que codifica la síntesis de la hormona hepcidina en hígado, la cual se encarga de regular la absorción del hierro a nivel intestinal y cuando existe un déficit de la misma, la absorción de hierro se altera, provocando una deposición excesiva en el parénquima hepático (Altes y Aranalde, 2009). Sin embargo, no obtuvieron resultados concluyentes, pues no se logró identificar diferencias de codificación en el gen HFE entre delfines sanos y delfines enfermos, aunque no descartan aún la posibilidad de que la hemocromatosis en los delfines se deba a la mutación del gen HFE y a la vez recomiendan la evaluación de la dieta y descartar otras patologías como la insulino resistencia, diabetes, enfermedad de hígado graso, cirrosis o síndrome metabólico, como posible causantes de esta hepatopatía (Venn-Watson *et al.*, 2011-b; 2013).

Con base en los resultados y la bibliografía científica revisada, el diagnóstico presuntivo más probable es Hemocromatosis o Enfermedad por sobre carga de hierro. Pocos meses después se reportó la muerte de uno de los ejemplares del grupo *Delfines Hepáticos* y aun cuando la causa de muerte fue Zigomicosis, parte de los hallazgos a la necropsia indicaban que se observó una marcada congestión aguda, con hemosiderosis y algunas hemorragias perivasculares. Los hepatocitos están hinchados, distorsionando los cordones hepáticos y se observa una mediana fibrosis periportal, con escasos linfocitos y neutrófilos_ (Anexo 2, Necropsia Polé, *Delfines Hepáticos*). Esto refuerza la propuesta de diagnóstico presuntivo ASOCIADO A UNA ENFERMEDAD POR ACUMULACIÓN DE HIERRO planteada para el grupo de estudio. Existen antecedentes de delfines en cautiverio que presentaron la misma signología clínica y luego de múltiples pruebas, se determinó que la causa de dichas alteraciones, eran originadas por sobre carga de hierro.

Como se ha observado, el estudio de los principales analitos hepáticos en delfines en cautiverio y su relación con hepatopatías inespecíficas sigue siendo inconcluso, debido a que hasta ahora no se han determinado causas específicas que provoquen dicho síndrome. Por esta razón, es fundamental que se generen investigaciones adicionales y se ahonde en el estudio de otros analitos como Albúmina y Globulinas, así como el conteo de plaquetas (componente importante del hemograma), ya que, tanto en humanos como en otros mamíferos, éstos se han relacionado con hepatopatías inespecíficas; además, estos estudios ayudarían a complementar el diagnóstico en estos casos y diferenciar entre los tipos de hepatopatías existentes.

Es importante que se realicen pruebas complementarias, no solo para la obtención de conocimientos específicos y para llegar a un diagnóstico definitivo, sino también, para que dicho conocimiento sea aplicado y contribuya a la salud y el manejo de los delfines en cautiverio.

9. RECOMENDACIONES

Actualmente no existen tratamientos específicos que garanticen la cura de las hepatopatías inespecíficas o Síndrome de enfermedad hepática. Existe un hepatoprotector llamado Silimarina (*Cardo mariano*), el cual ha demostrado tener efectos antioxidantes, antiinflamatorias, antifibróticos, inmunológicos y metabólicos y ha sido utilizado exitosamente en perros, ratones, ratas, aves, cerdos, vacas y humanos (Vargas, *et al.*, 2014); estas propiedades favorecen la regulación de la permeabilidad en hepatocitos y células de Kupffer, la inhibición de leucotrienos, proliferación del parénquima hepático y el restablecimiento de la función hepática en casos leves y moderados (Saller *et al.*, 2001; Green *et al.*, 2007). Con base en esto, se sugiere ahondar en la investigación del uso de Silimarina en toninas en cautiverio que presenten hepatopatías.

En conjunto con el uso de hepatoprotectores, desde hace unos años se ha estudiado el uso de flebotomías o sangrías en toninas ya que, su aplicación en casos donde se han diagnosticado patologías asociadas al incremento de Hierro, ALT, AST, GGT y LDH, ha demostrado que luego de 20 a 30 semanas de tratamiento la alteración de dichos analitos se restablece considerablemente (Johnson *et al.*, 2009; Dold 2015).

Para poder corroborar que la hemocromatosis es el principal factor participante en el síndrome de enfermedad hepática presentado por los individuos estudiados en la presente investigación, se recomienda hacer las pruebas específicas: Capacidad Total de Fijación de Hierro, Índice de Saturación de Transferrina y Ferritina sérica, como lo sugieren Clauss y Paglia (2012) y Mazzaro *et al.* (2012).

Así mismo, existen dos herramientas diagnósticas que, en conjunto con las pruebas descritas previamente, permiten complementar el estudio de las hepatopatías inespecíficas: la biopsia de tejido hepático y el uso de la técnica ultrasonográfica; ambas técnicas se han establecido específicamente para evaluar los cambios patológicos presentes durante el curso de este proceso patológico (Venn-Watson *et al.*, 2008; 2013; Johnson *et al.*, 2009; Mueller *et al.*, 2014).

10. LITERATURA CITADA

- Altes A., Aranalde J. (2009) Papel de la hepcidina en la patogenia de la hemocromatosis. *Progresos en Hepatología. Gastroenterología y Hepatología. Journal Elsevier*: 32 (9). Pp. 622 - 626.
- Bacon, B. R., & Britton, R. S. (1990). The pathology of hepatic iron overload: A free radical-Mediated Process? *Hepatology*, 11(1), 127-137.
- Bein J. en Letimer K., Mahaffey E., Prasse K. (2005) *Patología Clínica Veterinaria*. Duncan & Prasse's. Multimédica, Barcelona. Cap. 7. Pp. 238 - 261.
- Bloch, D., & Mikkelsen, B. (2000). *Preliminary estimates on seasonal abundance and food consumption of Marine Mammals in Faroese Waters. NAMMCO WG on Marine Mammal and Fisheries Interactions. Copenhagen 17-18 February 2000. SC/8/EC/7: 1-16.*
- Bossart G., Reidarson T., Dierauf L., Duffield D. (2001) *Clinical Pathology*. En: Dierauf L. and Gulland F. Ed. *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. CRC Press. 2nd ed. USA. Pp. 383 - 406.
- Brook F. M., Van B. W., Jensen E. (2001) *Ultrasonography*. En: Dierauf L. and Gulland F. eds. *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. CRC Press. 2nd ed. USA. Pp. 510: 810 - 840.

- Carrillo C. A., Alonso S. M. L., Escobar I. M. I., Ramírez N. R., Mota R. D. (2005) Elaboración de un Etograma Empático del Delfín Nariz de Botella (*Tursiops truncatus*) en cautiverio. Cuadernos de Etología y Fauna Silvestre, No 2. Ed. UJED. UJED, UAM, México.
- Chan I. (2015) Delfinario de Q. Roo, el único en el inventario nacional. SIPSE - NOVEDADES QUINTANA ROO. Disponible en: <http://sipse.com/novedades/delfinario-de-q-roo-el-unico-en-el-inventario-nacional-155037.html> Fecha de consulta; 11 de agosto, 2016.
- CITES (2013) Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Apéndice II. P. 10.
- Clauss M., Paglia D. (2012) Iron storage disorders in captive wild mammals: the comparative evidence. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 43 (3). Pp: 6 - 18.
- Díaz G. R. E. (2003). Diferenciación entre tursiones *Tursiops truncatus* costeros y oceánicos en el Golfo de California por medio de análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno (Doctoral dissertation, M. Sc. thesis, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN).
- Dold C. (2015) Ch. IV. Mammal Groups. En Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine, Volume 8. USA. Pp. 432.
- Duras M., Divac D., Gomercic T. (2014) Craniometry of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Adriatic Sea. Veterinarski Arhiv 84 (6), 649-666.
- Fair P. A., Hulsey T. C., Varela R. A., Goldstein J. D., Adams J., Zolman E. S., Bossart. G. D. (2006) Hematology, Serum Chemistry, and Cytology Findings from Apparently Healthy Atlantic Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) Inhabiting the Estuarine Waters of Charleston, South Carolina. Aquatic Mammals Journal. No. 32 (2). Pp. 182 - 195.
- Gallego P. (2000) Food Management in Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège - Zoo Duisburg. Pp. 5 - 13.

- García M., Zurita A. (2012) Transaminasas: Valoración y significación clínica. Protocolos de la AEP. Protocolos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición. Asociación Española de Pediatría, Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, 2.ª ed: Ergón. Madrid, pp 267-275.
- Gianini E. G., Testa R., Savarino V. (2005) Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. Canadian Medical Association or its licensors. Feb.1:172 (3).
- Green, R. J. (2007). Natural therapies for emphysema and COPD: relief and healing for chronic pulmonary disorders. Inner Traditions/Bear & Co.
- Jaber, J., Pérez, C., Carrascosa C., Peña S., Monzón M., Suárez-Bonnet A., Fernández A. (2013). Hepatitis reactivas no específicas en delfines mulares (*Tursiops truncatus*) varados en las Islas Canarias: estudio patológico e inmunohistoquímico. REVISTA CANARIA DE LAS CIENCIAS VETERINARIAS, No 8. Pp: 39 - 46.
- Jiménez E., Pauta C., Peña R. (2010) Transaminasas séricas en personas de 23-42 años, de la ciudad de la Cuenca - Ecuador 2009 - 2010. Tesis de Licenciatura. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Tecnología Médica. Pp: 16 - 18.
- Johnson, S. P., Venn-Watson, S. K., Cassle, S. E., Smith, C. R., Jensen, E. D., & Ridgway, S. H. (2009). Use of phlebotomy treatment in Atlantic bottlenose dolphins with iron overload. Journal of the American Veterinary Medical Association, 235(2), 194-200.
- Lemus M., Villaseñor A. (2009) Determinación de la velocidad de sedimentación globular mediante micrométodo comparado con el método Wintrobe. Enf. Inf. Microbio. 29 (2). 66-69.
- León L. L. (2013) Manual de Manual de Prácticas de Laboratorio de Inmunología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. Pp: 20 - 23.
- Ley General de Vida Silvestre. 2015. México.

- Lynn M., Dierauf L., Gulland F. (2001) Marine Mammals as Sentinels of Ocean Health. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. CRC Press. 2nd ed. USA. Pp. 3-9.
- Lu S., Wanj S., Hung C., Chen C., Changchien C. (2006) Thrombocytopenia as a surrogate for cirrhosis and a marker for the identification of patients at high-risk for hepatocellular carcinoma. American Cancer Society. Wiley InterScience. Pp. 2212 - 2222.
- Mayers S. (1998) A Review of the Scientific Justifications for Maintaining Cetaceans in Captivity. A Report for the Whale and Dolphin Conservation Society. Pp. 6.
- Mazzaro L. M., Johnson S. P., Fair P. A., Bossart G., Carlin K. P., Jensen E. D., Smith C. R., Andrews C. A., Chavey P. S., Venn-Watson S. (2012) Iron Indices in Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). Comparative Medicine by the American Association for Laboratory Animal Science. Vol. 62, No 6. Pp. 508 - 515.
- Mueller, S., Seitz, H. K., & Rausch, V. (2014). Non-invasive diagnosis of alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(40), 14626.
- NOM-059-SEMARNAT-2010. Norma Oficial Mexicana. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.
- NOM-135-SEMARNAT-2004. Norma Oficial Mexicana. Para la regulación de la captura para investigación, transporte, exhibición, manejo y manutención de mamíferos marinos en cautiverio.
- Núñez L. O. en en: Núñez O. L., Bouda J. eds. (2007) Patología Clínica Veterinaria. 2ª ed. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México.12; 94.
- Phillips B. E., Venn-Watson S., Archer L., Nollens H., Wellehan F. (2014) Preliminary Investigationromm of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) for hfe Gene-related Hemochromatosis. *Journal of Wildlife Disease*, 50 (4).

- Prochazka, R., & Tagle, M. (2005). Hereditary hemochromatosis: clinical case report and literature review. *Revista de gastroenterología del Perú: órgano oficial de la Sociedad de Gastroenterología del Perú*, 26(3), 312-317.
- Quiróz R. G., Bouda J. En: Núñez O. L., Bouda J. eds. (2007) Patología Clínica Veterinaria. 2ª ed. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México. 7; 10; 94.
- Rice DW. (1998) Marine mammals of the world: systematics and distribution. Society for Marine Mammalogy, Spec Pub 4, Lawrence, KS
- Rommel S. A., Lowenstine L. Gross and Microscopic Anatomy. En: Dierauf L. and Gulland F. eds. (2001) CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. CRC Press. 2nd ed. USA. 139.
- Saller, R., Meier, R., & Brignoli, R. (2001). The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 61(14), 2035-2063.
- Sánchez A. A. (2010) Sangre y Hematopoyesis. Facultad de Medicina, UNAM. México. Disponible en:http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/Doc/Repaso_III/Clases/SANGRE_HEMATOPOYESIS.pdf. Fecha de consulta; 15 de octubre de 2014.
- Sapoznikow A., Reeves C., Sessa G., Mansur L., de la Reta M. (2002) Mamíferos Marinos. Área de Protección Ambiental, Fundación Patagonia Natural. Argentina. Pp 31 - 32.
- Serrano, A., L. Zavaleta-Lizárraga, I. Martínez-Serrano. (2007) Uso de delfines y tortugas marinas como indicadores del estado de salud del ecosistema marino en la zona norte del golfo de México. Informe técnico. Universidad Veracruzana-PEMEX Exploración y Producción, Tuxpan, Veracruz. 197.
- Sorensen K. C., Venn-Watson S., Ridway S. (2008) Trace and non - trace elements in blood cells of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): Variations with values from liver function indicators. *Journal of Wildlife Disease*, 44 (2), Pp. 304 - 317.

- Sweeney J., Reddy M. L., Lipscomb T., Bjorneby J., Ridgway S. (2003) Handbook of Cetacean Cytology. 3rd edition. Dolphin Quest, Inc. Pp. 3; 37 - 38.
- Turner JP, Worthy GAJ (2003) Skull morphometry of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the gulf of Mexico. J. Morphol 84:665-672
- Trotter J. (2006) Coagulation Abnormalities in Patients Who Have Liver Disease. Clinics in Liver Disease. Gastroenterology and Hepatology. Journal Elsevier: 10. Pp. 665 - 678.
- Urbán R. J., Guerrero R. M. (2008) Conocimiento biológico de las especies de mamíferos marinos, incluidas en la Norma Oficial Mexicana-059-SEMARNAT-2001. Ficha Técnica de *Tursiops truncatus*. UABCS. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. CK009. Pp. 1 - 2; 9.
- Valdes A., M. P., Serrano, A., Heckel, G., Schramm, Y., & Martínez-Serrano, I. (2011). Abundancia de dos poblaciones de toninas (*Tursiops truncatus*) en el norte de Veracruz, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 82(1), 227-235
- Vargas M., Madrigal S., Morales G., Esquivel S., Esquivel C., García L., Morales G. (2014). Hepatoprotective effect of silymarin. *World J Hepatology*, 6(3), 144-9.
- Venn-Watson S., Smith C. R., Jensen E. D. (2008) Assessment of increased serum aminotransferases in a managed Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) population. *JWD*, 44 (2), Pp. 318 - 330.
- Venn-Watson S., Johnson S., Smith C., St. Leger J. (2011-a) Hemochromatosis in bottlenose dolphins: clinical significance, risk factors, and treatment suggest non-hereditary etiology. In Ward A, Coslik A, Maslanka M, Eds. Proceedings of the Ninth Conference on Zoo and Wildlife Nutrition, AZA Nutrition Advisory Group, Kansas City, MO.
- Venn-Watson S., Carlin K., Ridway S. (2011-b) Dolphins as animal models for type 2 diabetes: Sustained, post-prandial hyperglycemia and hyperinsulinemia. *General and Comparative Endocrinology*. Journal Elsevier. 170. Pp. 193 - 199.

- Venn-Watson S., Benham C., Carlin K., DeRienzo D., St. Leger J. (2012) Hemochromatosis and fatty liver disease: building evidence for insulin resistance in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 43 (3). Pp. 35 - 47.
- Venn-Watson S., Rowe C., Stevenson S., Parry C., Daniels R., Jensen E., Cendejas V., Balmer B., Neely B., Wells R. (2013). Blood - based indicators of insulin resistance and metabolic syndrome in bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Frontiers in Endocrinology*. Vol. 4. Art: 136. Pp. 1 - 8.
- Vilorio L., Medrano G. (2015). Population ecological traits of *Tursiops truncatus* putative morphotypes in the transitional region of the Mexican Pacific Ocean. *Asociación Mexicana de Maztozoología, A. C. Revista THERYA*, Vol. 6 (2). Pp. 351-370.
- Waring, G. T., Josephson, E., Maze-Foley, K., & Rosel, P. E. (2012). US Atlantic and Gulf of Mexico Marine Mammal Stock Assessments--2011. *NOAA Tech Memo NMFS NE*, 221(319), 02543-1026.
- Wells R. S., Scott M. D. (2009) Common Bottlenose Dolphin - *Tursiops truncatus*. En: Perrin W. F., Würsig B., Thewissen J. G. M. Eds. *Encyclopedia of Marine Mammals*. 2nd ed. Academic Press, Elsevier. USA. Pp 249 - 250.

11. ANEXOS

11.1 Anexo 1. Cuadro A. Resultados y promedios semanales.

ANALITO/SI	INTERVAL O HEM.	SEM 1	SEM 2	SEM 3	SEM 4	SEM 5	SEM 6	PROMEDI O FINAL
CCB(x10 ⁹ /L)	5000 - 7000	6550	603 0	573 3	772 5	685 0	693 6	6637
CCR (x10 ¹² /L)	3.0 - 3.7	3.2	3.3	3.2	3.2	3.1	3.1	3.2
HB (g/L)	135 - 155	150	150	150	150	150	150	150
HCT (L/L)	0.38 - 0.44	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
PLT (x10 ⁹ /L)	80 - 150	70	85	74	78	84	75	78
VSG (mm/60min)	4-17	11	14	12	13	13	16	13
GLU (mmol/L)	5.0 - 9.4	5.0	5.2	5.0	5.3	5.5	5.4	5.2
UN (mg/dL)	15 - 21	18	17	17	17	17	18	17
COL (mmol/L)	4-7	7	6	7	6	6	6	7
TRIG (mg/dL)	11 - 175	36	36	36	36	41	41	38
CRTN (μmol/L)	88- 256	97	97	97	146	88	80	101
PT (g/L)	60 - 78	72	72	72	72	72	74	72
ALB (g/L)	39 - 49	36	35	35	37	37	38	36
GLO (g/L)	21 - 31	37	37	37	36	35	36	36
A/G	0.8-2.3	0.9	1.0	0.9	1.0	1.1	1.1	1.0
BIL T (μmol/L)	1.7 - 3.4	<R	<R	<R	<R	<R	<R	<R**
CK (U/L)	100 - 250	121	96	112	116	101	112	110
Fe (μg/L)	92 - 300	316	331	335	319	332	335	328
AST (U/L)	190 - 300	643	671	611	629	562	476	599
ALT (U/L)	28 - 60	223	229	221	249	236	247	234
GGT (U/L)	21 - 48	430	448	434	470	644	597	504
LDH (U/L)	350 - 500	>R	>R	>R	>R	>R	>R	>R*
ALKP (U/L)	300 - 1300	302	345	331	330	349	342	333

CCB= Conteo de Células Blancas
 CCR= Conteo de Células Rojas
 HB= Hemoglobina
 HCT= Hematocrito
 PLT= Plaquetas
 VSG= Velocidad de Sedimentación Globular
 NU= Nitrógeno Ureico
 COL= Colesterol
 TRIG= Triglicéridos
 CRTN= Creatinina
 PT= Proteínas Totales

ALB=Albúmina
 GLO= Globulinas
 A/G= Relación Albúmina Globulinas
 BIL T= Bilirrubinas Totales
 CK=Creatinina Cinasa
 Fe= Hierro
 ALT= Alanino aminotransferasa
 AST= Aspartato aminotransferasa
 GGT= Gama glutamiltanspeptidasa
 LDH= Lactato Deshidrogenasa
 ALKP= Fosfatasa Alcalina
 *>R= Mayor al rango de cuantificación
 **<R= Menor al rango de cuantificación

11.2 Anexo 2. Necropsia Polé, *Delfines Hepáticos*.



Av México 3370. Fracc. Monraz.
Plaza Bonita Local 7-C Zona Prima
Guadalajara, Jal. CP 44670
Tel: 33-3648 5685 / 33-3720 3284
Cel: 33-13616390
info@patvet.com.mx
patvet@outlook.com
patologiaveterinaria@hotmail.com

DIAGNÓSTICO FINAL

- 1- Zigomicosis diseminada.
(Pulmón, piel, tejido conectivo, músculo, bazo, riñón, placenta).

COMENTARIOS Y HALLAZGOS ADICIONALES:

Las lesiones macroscópicas pudieran ser sugerentes de Erisipela, pero la necrosis e infartos observados en diversos tejidos se deben a una Zigomicosis diseminada.

Dr: A quien corresponda

CLÍNICA / HOSPITAL: Grupo Vía Delphi
PACIENTE: Canino. Delfín Nariz de botella hembra de 25 años con 8 meses de gestación. Polé

# Acceso:	2229-15
Recibido:	16 Oct 2015
Reportado:	26 Oct 2015

ESTUDIO SOLICITADO: Histopatología:

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA:

Se reciben múltiples muestras de tejido fijadas en formol, de diversos tamaños. Son identificadas como biopsias de piel y diversos órganos. Presenta lesiones en piel de forma romboide en diferentes partes del cuerpo. Cortes representativos son procesados en 9 laminillas que son teñidas con hematoxilina y eosina.

Se reportan lesiones en piel de forma romboide, de diferentes tamaños, diseminadas por todo el cuerpo.

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA / DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO:

Hígado: Se observa una marcada congestión aguda, con hemosiderosis y algunas hemorragias perivasculares. Los hepatocitos están hinchados, distorsionando los cordones hepáticos. Se observa una mediana fibrosis periportal, con escasos linfocitos y neutrófilos. **Intestino:** Se observa de manera difusa una moderada necrosis de la mucosa superficial, con ocasionales hemorragias y muy escasos leucocitos. **Pulmón:** Se observan algunos focos de necrosis, con abundantes detritus celulares y cariorécticos, fibrina, hemorragias y moderados leucocitos degenerados. Están asociados a una intensa reacción inflamatoria, caracterizada por neutrófilos degenerados, macrófagos, escasos linfocitos y algunas células multinucleadas tipo cuerpo extraño. Se observan muy abundantes hifas y fragmentos de hifas, irregulares, de 5 um a 20 um de ancho, con paredes no paralelas, ocasionalmente septadas, mostrando ramificaciones no dicotómicas, y dilataciones bulbares. Algunos vasos sanguíneos son invadidos por las hifas, y presentan degeneración y necrosis, con la inflamación previamente descrita. En otras secciones se observa una moderada neumonía intersticial supurativa e histiocítica, con edema, congestión y algunas hemorragias. **Placenta:** De manera multifocal, las vellosidades presentan hemorragias, con necrosis, y una mediana respuesta inflamatoria, compuesta por neutrófilos degenerados, macrófagos y menor número de linfocitos. Hay frecuentes hifas previamente descritas, con detritus y fibrina. **Piel y tejido subcutáneo conectivo y muscular:** Ocasionalmente se observan algunos focos de erosión epitelial. En la dermis se observan frecuente necrosis vascular y hemorragias, con vasos sanguíneos trasmigrados por las hifas previamente descritas, que muestran degeneración y necrosis, y son rodeados y transmigrados por una moderada respuesta inflamatoria, con abundantes neutrófilos degenerados, macrófagos y menor número de linfocitos. En el músculo esquelético y tejido conectivo, ocasionalmente se observan focos de necrosis y hemorragia, con vasos sanguíneos afectados por las hifas e inflamación previamente descrita. **Corazón:** Se observan algunas hemorragias en pericardio, con una mínima cantidad de neutrófilos y linfocitos. **Linfonódulo:** Se observa hiperplasia linfoide, con ocasionales focos pequeños de necrosis muy escasos neutrófilos. **Riñón:** Se observan áreas de infarto, con necrosis isquémica, caracterizada por una zona delimitada que muestra preservación de la arquitectura tisular, con moderados detritus, fibrina y hemorragia. En la periferia se observa una moderada respuesta inflamatoria supurativa e histiocítica, con abundantes neutrófilos degenerados, macrófagos y menor número de linfocitos. Hay abundantes hifas intralesionales previamente descritas, invadiendo la pared de vasos sanguíneos, que muestra degeneración, necrosis y hemorragia, y es infiltrada por los leucocitos previamente descritos. **Bazo:** Se observan múltiples focos de necrosis y hemorragia, con moderados detritus, fibrina, algunos leucocitos degenerados, y abundantes hifas descritas anteriormente. **Estómago:** Hay ocasionales hemorragias en la mucosa superficial, con leve pérdida epitelial. Los siguientes órganos se observaron dentro de los límites considerados normales: Vaso sanguíneo, ovario, cerebro, cerebelo, útero.