

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DEL PATRÓN ELECTROFORÉTICO DE
PROTEÍNAS SÉRICAS, HEMOGRAMA, PERFIL HEPÁTICO Y
RENAL EN TONINAS *Tursiops truncatus* EN CONDICIONES DE
CAUTIVERIO EN MÉXICO

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

KARLA ALEJANDRA LÓPEZ MURILLO

Asesores:

Dr. Francisco Javier Basurto Alcántara
M en C Rosa Luz Mondragón Vargas
MVZ Alejandro Hernández Alarcón

México, D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres, a mis maestros a mis amigos y a los delfines.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

Dr. Francisco Javier Basurto Alcántara
M en C Rosa Luz Mondragón Vargas
MVZ Alejandro Hernández Alarcón

A los integrantes del jurado:

MVZ Samuel Genaro Jardón Herrera
MVZ Dulce María Brousset Hernández-Jauregui
MVZ Francisco Galindo Maldonado
MVZ Francisco Javier Basurto Alcántara
MVZ Laura Cobos Marín

A los delfinarios y al personal que labora en ellos:

Delfiniti S. A. de C. V.
Six Flags México S. A. de C. V.
CONVIMAR S. A de C. V.

A los médicos encargados de la salud y bienestar de los delfines:

MVZ Jorge Guzmán
MVZ Aurora Ramos Garduño
MVZ Alejandro Hernández Alarcón

Un especial agradecimiento por su valioso tiempo en la capacitación y en la realización de las técnicas electroforéticas al MVZ Daniel Atilano López y a todas las personas que laboran en el Laboratorio de Serología del departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ, UNAM por la atención brindada.

A quienes colaboraron, me aconsejaron de alguna manera y me brindaron su apoyo en las distintas etapas de la elaboración de la tesis:

MVZ, M en C. Rigoberto Hernández Castro
Dr. Guillermo Pulos Cárdenas
MVZ Frida Salmerón Sosa

A todo el personal del departamento de Patología Clínica de la FMVZ, UNAM.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Clasificación taxonómica	2
Localización geográfica.....	2
Características anatómicas	2
Morfología funcional.....	4
Fisiología funcional	5
Delfines en cautiverio	6
Electroforesis.....	7
Hematología y bioquímica clínica.....	8
Variaciones en la electroforesis, hematología y bioquímica clínica en delfines	9
Justificación.....	13
Hipótesis	13
Objetivo general.....	14
Objetivos específicos	14

MATERIAL Y MÉTODOS	15
Animales.....	15
Obtención de muestras sanguíneas	17
Toma de muestras	18
Conservación y transporte	18
Electroforesis	18
Hemograma	19
Bioquímica clínica	19
Análisis estadístico	19
RESULTADOS	20
Electroforesis	20
Hemograma.....	24
Bioquímica clínica	28
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	38
PROSPECTIVA	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

RESUMEN

KARLA ALEJANDRA LÓPEZ MURILLO. Determinación del patrón electroforético, de proteínas séricas, hemograma, perfil hepático y renal en toninas *Tursiops truncatus* en condiciones de cautiverio en México (bajo la dirección de MVZ M en C Dr. Francisco Javier Basurto Alcántara, MVZ, M en C Rosa Luz Mondragón Vargas y MVZ Alejandro Hernández Alarcón)

En las últimas décadas la explotación de los delfines en México con fines de espectáculo, nado con delfines y delfinoterapia se ha expandido, lo que ha resultado en una constante evolución de la investigación y la medicina en cetáceos. En este trabajo se evaluó el patrón electroforético de las proteínas séricas, el hemograma y los perfiles hepático y renal de 15 delfines del género *Tursiops truncatus* mantenidos bajo condiciones de cautiverio de algunos delfinarios de México. Se tomaron muestras sanguíneas de la aleta caudal recolectándola en tubos *venoject*[®] de 7mL. con y sin anticoagulante. A partir de los sueros obtenidos se realizó la prueba de electroforesis zonal y se obtuvieron los porcentajes para cada fracción proteínica. Los resultados fueron graficados. Se realizaron las pruebas de hematócrito (Ht), cuenta de eritrocitos y leucocitos y cuenta diferencial, asimismo se determinaron los perfiles bioquímicos renal y hepático. Los resultados fueron analizados con estadística descriptiva. No se obtuvo un patrón electroforético confiable que pudiera ser de ayuda en la evaluación clínica de los animales, para el hemograma y el perfil hepático y renal se obtuvieron datos similares a los reportados en la literatura; se observó una leucocitosis neutrofílica en los delfines de los delfinarios de la Ciudad de México, se observaron diferencias y similitudes en los analitos del hemograma y bioquímica clínica con respecto a mamíferos terrestres y se obtuvo información de utilidad para establecer patrones normales para cada animal de estudio.

INTRODUCCIÓN

Clasificación taxonómica

El delfín *Tursiops truncatus* es un animal perteneciente a la Clase *Mammalia*, al Orden *Cetacea* que incluye a todas las ballenas, al Suborden *Odontoceti* donde se encuentran todas las ballenas dentadas y a la Familia *Delphinidae* o de los delfines verdaderos^{1, 2}. Otros nombres por los que se le conoce comúnmente son delfín mular³, tonina, chacón y tursión^{4, 5}.

Localización geográfica

El delfín mular se localiza en aguas templadas y tropicales del Pacífico, Atlántico, Golfo de México, Mediterráneo, alrededor de las islas de Hawai, África, Australia, Nueva Zelanda, Japón y el Océano Índico⁴. Es la especie que cuenta con mayor número de ejemplares desde el sur de Estados Unidos de América hasta el sureste de Argentina. La mayor densidad poblacional se encuentra en las zonas costeras en comparación con las pelágicas. Este tipo de cetáceos no se encuentra a una latitud mayor de 45° en ambos hemisferios con excepción de los avistados en el Reino Unido y el norte de Europa. El hábitat más frecuente de la especie *Tursiops truncatus* es cercano a los puertos, bahías, lagunas, golfos y estuarios^{6, 7}.

Características anatómicas

Este cetáceo es mejor conocido en Europa y Estados Unidos de América con el calificativo “nariz de botella” por la notoria nariz o morro de 7-8 cm de longitud a la cabeza protuberante o melón,⁹ confiriendo un rostro bien definido^{7, 9}, característico de la especie.

Tiene una coloración corporal que va desde el gris oscuro al claro en el dorso y blanco o rosado en el vientre. Según la dirección de la luz se puede observar una capa más oscura a todo lo largo del dorso a la altura de los ojos, así como manchas grisáceas en el cuerpo, especialmente en la cara⁷.

El cuerpo es robusto, hidrodinámico y fusiforme, la aleta dorsal se localiza en el centro de la espalda y está curvada hacia atrás^{4, 8}; se compone de tejido conectivo fibroso, está desprovista de estructuras óseas⁸ y facilita la termorregulación corporal¹⁰. Las aletas caudales, del mismo tejido que la dorsal, son cóncavas y cada una tiene una muesca que puede ser de utilidad en la identificación⁹. Éstas son movidas por los músculos longitudinales de la espalda y del pedúnculo caudal y son el medio principal de propulsión¹⁰. Las aletas pectorales están provistas de todos los huesos de un miembro torácico de cualquier mamífero terrestre, aunque modificados⁹ y además de ayudar a regular la temperatura sirven para dirigirse en el agua¹⁰. Los cetáceos son los únicos animales dentro de la clase *mammalia* que carecen de extremidades pélvicas¹¹ así como de orejas y órganos reproductores externos, lo que refleja una adaptación a la vida exclusiva al medio acuático¹⁰.

La cabeza es telescópica, con huesos elongados que forman el rostro y otros traslapados que resultan en un cráneo más pequeño; es posible que esto se deba al desplazamiento de algunas estructuras óseas durante la evolución de los odontocetos, colocando el orificio nasal o espiráculo en una posición dorsal, facilitando así, la respiración. Por otro lado, existe un grado de asimetría en la región facial donde los componentes óseos del lado derecho son más grandes que los del lado izquierdo^{12, 13}. Las toninas son homodontos y poseen dientes en ambos maxilares, de 20-26 pares en la mandíbula superior y de 18-24 en

la inferior^{4, 8}, los cuales les sirven para atrapar a sus presas. La extracción de piezas dentales se utiliza para determinar la edad de los delfines por medio del análisis de las capas de crecimiento¹⁴. En cautiverio pueden llegar a vivir hasta 20 años¹⁵.

El delfín nariz de botella es el más grande de los delfines, pudiendo medir hasta 3.6 m de longitud, con valores promedio entre 2.4 a 2.7 m y 200 kg de peso^{4, 16}, los machos son considerablemente más grandes que las hembras¹⁷.

Morfología funcional

El agua es un medio más denso, viscoso y tiene un coeficiente de conductividad termal veinticinco veces mayor que el aire a una temperatura similar. Lo anterior implica que si un cuerpo se desplaza en un fluido, la resistencia al avance aumentará y la pérdida de calor será, por lo tanto, veinticinco veces más rápida que en la superficie terrestre. Por esta razón los cetáceos han sufrido un proceso evolutivo que les permite desenvolverse de manera óptima en su hábitat.

La resistencia al avance en el agua es provocada por dos fuerzas: una por la viscosidad del fluido y la otra por la presión. La piel lisa de los cetáceos es el resultado de la alta capacidad proliferativa de la epidermis¹⁸ que disminuye el área superficial y por lo tanto la resistencia por la viscosidad. Por otro lado, el cuerpo fusiforme disminuye la resistencia al avance por presión al hacer fluir el líquido alrededor de él.

El tegumento de los cetáceos es un órgano que, al contacto con el agua, forma una capa relativamente aislante para mantener una temperatura interna constante. Esta grasa hipodérmica es gruesa y está reforzada por una red de fibras elásticas y de colágeno. Los mamíferos acuáticos necesitan también un medio por el cual eliminar el exceso de calor,

por lo que la hipodermis se encuentra altamente vascularizada. El calor es transportado por el sistema vascular y atraviesa la capa adiposa hacia la superficie en donde, por conductividad, se elimina al ambiente acuático. Adicionalmente, las aletas del cuerpo sirven como “ventanas termales” que al tener grandes vasos superficiales llevan sangre venosa caliente a la superficie del tegumento para ser enfriada; esta sangre que circula por los retornos venosos tiene contacto con las arterias que van hacia la periferia y capta a su vez el calor de la sangre arterial, preenfriándola¹³.

Fisiología funcional

Uno de los aspectos fisiológicos más notables es la capacidad de los cetáceos para realizar inmersiones prolongadas sin un continuo consumo de oxígeno y sin estar expuestos a enfermedades por descompresión. A diferencia de los mamíferos terrestres, quienes requieren realizar una apnea que les permita mantener los pulmones llenos de aire para sumergirse en el agua, los delfines, al inspirar, almacenan una mayor cantidad de oxígeno en sangre y músculo. Esto se debe a que cuentan con un mayor volumen sanguíneo, concentración de eritrocitos y de mioglobina, por lo que la capacidad pulmonar pasa a segundo plano¹⁹. De esta manera el oxígeno se transporta a través de la unión reversible a la hemoglobina de los eritrocitos y a la mioglobina de las células musculares permitiendo con esto que los pulmones también funcionen como compensadores de flotabilidad. En los delfines, a diferencia de los humanos, no ocurren trastornos por efectos de presión en inmersiones mayores a diez metros, ya que se evita la disolución del nitrógeno hacia el torrente sanguíneo por la presencia de esfínteres pulmonares y alveolares que, junto con la deformación de la caja torácica flexible, promueven un colapso pulmonar y alveolar¹³.

Delfines en cautiverio

Los primeros informes que se tienen de delfines en cautiverio se remontan a 1860 en el *Actuarial Gardens* del *Barnum's Museum* de Nueva York^{20, 21}. A finales de 1930 *Marine Studios* abrió sus puertas en el estado de Florida y esto marcó el principio del mantenimiento de cetáceos en cautiverio con fines de espectáculo, que más tarde llegó al resto del mundo^{4, 21, 22}.

Son diversas las especies de mamíferos marinos que se prefieren para mantenerse en cautiverio; el delfín nariz de botella ocupa el primer lugar ya que permite el entrenamiento por medio de estímulos para poder realizar espectáculos, soporta en buena medida el confinamiento²³ y se ha descrito como una especie capaz de habituarse a la interacción con el humano²⁴, esto último ha sido aprovechado por algunos delfinarios para dar un enfoque hacia el nado con delfines.

Las toninas, que con mayor frecuencia se mantienen en cautiverio, son originarias de las aguas del Océano Atlántico ya que tienen un menor tamaño que los delfines del Pacífico²⁵, además de ser una especie de hábitos costeros⁷.

En México existen diversos delfinarios que atraen a millones de personas anualmente, lo que ha provocado una expansión de este entretenimiento desde la aparición del primer delfinario en nuestro país en 1968^{26, 27}. Adicionalmente, los organismos dedicados a la conservación y bienestar de los animales a nivel mundial han ejercido mayor presión en mejorar la calidad de vida de los mamíferos marinos en cautiverio, lo que ha dado como resultado una constante evolución de la investigación y el desarrollo de la medicina en cetáceos^{4, 21}.

Electroforesis

El patrón electroforético de proteínas séricas es un procedimiento que se realiza en medicina veterinaria y humana desde hace varias décadas con el propósito de diagnosticar desórdenes patológicos^{28, 29, 30} como detección de la disminución de γ globulinas, anomalías en las concentraciones de inmunoglobulinas³¹ y para conocer el polimorfismo bioquímico de las proteínas³². En la literatura se pueden encontrar patrones electroforéticos normales para diversas especies que sirven como elementos de referencia³⁰. Recientemente estas herramientas diagnósticas se han comenzado a utilizar en la medicina de mamíferos marinos³³.

Actualmente pueden encontrarse valores de referencia de proteínas séricas para delfines en bases de datos internacionales³⁴; sin embargo, son pocas las publicaciones científicas en relación a este tema en cetáceos^{32, 33} y no se conocen estudios realizados en México.

La electroforesis zonal es una técnica en la que bajo un campo eléctrico en soluciones amortiguadoras, las proteínas del suero migran dependiendo de su carga eléctrica, y se separan en albúmina y en distintas fracciones de globulinas^{31, 33}. El valor absoluto para cada una de las fracciones proteínicas se calcula multiplicando el porcentaje de cada fracción por el total de concentración de proteínas séricas determinado químicamente.

Las proteínas séricas observadas en cetáceos son la prealbúmina, albúmina, las globulinas α -1 y α -2, β -1 y β -2 y la fracción γ . La electroforesis de proteínas séricas es el método de elección en medicina de mamíferos marinos para la determinación de la albúmina³³.

Hematología y bioquímica clínica

El hemograma y los perfiles hepático y renal se realizan como un procedimiento de rutina para evaluar el estado general de salud de los animales³⁵, el estado del organismo para combatir infecciones, el progreso en un proceso patológico y como herramienta diagnóstica³⁶.

Se cuenta con bases de datos de los valores sanguíneos normales encontrados en delfines nariz de botella, que se han recopilado a través de los años en países con mayor desarrollo en la medicina de cetáceos, como es el caso de Estados Unidos de América; esta información ha sido de gran utilidad para evaluar a los individuos de los distintos grupos mantenidos en cautiverio^{34, 35}. No obstante, el comportamiento hematológico de estas especies silvestres puede variar considerablemente debido a las condiciones ambientales, manejo, nutrición, edad, género y actividad de los animales^{35, 37}. En países como Japón en donde los acuarios y parques acuáticos han proliferado en los últimos años, se ha buscado establecer valores hematológicos de delfines y ballenas, que aunque no difieren sustancialmente de los valores publicados previamente, son referencias importantes para las condiciones propias de cautiverio³⁸, ya que desde hace casi dos décadas, algunos investigadores mencionan que los valores sanguíneos obtenidos de estas poblaciones cautivas pueden ser un reflejo de las adaptaciones de los delfines a las condiciones particulares del confinamiento³⁹.

Se ha reportado la correlación que existe entre los parámetros eritrocíticos y la habilidad de los mamíferos acuáticos para realizar inmersiones, lo que también habla de cambios adaptativos en estas especies^{40, 41}. En otros estudios se ha mencionado la diferencia en los valores de algunos parámetros del hemograma y del perfil hepático y renal

con respecto a otras especies de mamíferos terrestres⁴². Otros investigadores han obtenido datos cuantitativos en las mediciones de estrés⁴³ causado por las condiciones de cautiverio y lo que éstas implican. En este sentido, es importante recalcar que las actividades relacionadas con la captura, transporte, confinamiento y la posterior toma de muestras de los cetáceos son consideradas factores desencadenantes de estrés.

Estos pueden minimizarse por medio del entrenamiento de los delfines para que el muestreo sanguíneo se convierta en un hábito y se reduzcan las alteraciones en los parámetros de las pruebas que se realicen⁴⁴.

Variaciones en la electroforesis, hematología y bioquímica clínica en delfines

Los valores de albúmina son más altos en los cetáceos comparativamente con los mamíferos terrestres⁴⁵. Se puede presentar hiperalbulinemia relativa cuando los cetáceos se encuentran deshidratados. En contraste, puede encontrarse hipoalbulinemia en presencia de enfermedades hepáticas avanzadas, mala nutrición, secundarios a hiperglobulinemia y cuando existan lesiones graves en piel³³.

Existen estudios en medicina humana y veterinaria que han demostrado que los cambios en las concentraciones de las proteínas de fase aguda, donde se incluyen las α globulinas⁴⁶, representan marcadores tempranos para la identificación de las enfermedades inflamatorias⁴⁷. Estas proteínas pueden encontrarse elevadas en enfermedades inflamatorias o infecciosas antes de presentarse signos clínicos en los animales. Adicionalmente algunas inmunoglobulinas pueden migrar y encontrarse en la fracción β ³³, por lo que la determinación por medio de la electroforesis puede ser de gran ayuda diagnóstica.

La morfología eritrocítica de los cetáceos es diferente con respecto a la de los mamíferos terrestres, ya que los eritrocitos son más gruesos en la periferia y con forma de dona; el tamaño es mayor y las concentraciones de hemoglobina son más altas. Las cuentas eritrocíticas en neonatos son altas y van disminuyendo conforme los delfines aprenden a bucear³³.

El volumen sanguíneo no es directamente proporcional al peso corporal, como se ha reportado en algunos animales terrestres. Estas diferencias son claramente cambios adaptativos al hábitat acuático y a las necesidades de realizar inmersiones a grandes profundidades.

En los siguientes cuadros se presentan los valores de referencia reportados en la literatura por el Sistema de Información Internacional de Especies (*International Species Information System, ISIS*)³⁴ para delfines, y valores de referencia reportados por otros autores para la electroforesis en otras especies de odontocetos.

Cuadro 1. Valores de referencia para la electroforesis (ISIS)³⁴ en el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*).

Fraciones	Unidades	Media	Rango
Albúmina	g/L	48	39-53
Alfa globulina	g/L	0.003	0.002-0.005
Alfa-1 globulina	g/L	0.002	0.001-0.005
Alfa-2 globulina	g/L	0.006	0.003-0.010
Beta globulina	g/L	0.006	0.002-0.010
Gamma globulina	g/L	9	3-18

Cuadro 2. Valores normales reportados para la electroforesis de proteínas séricas para ballenas beluga (*Delphinapterus leucas*)⁴² y delfín moteado (*Stenella attenuata*)⁴⁸.

Fracciones proteínicas	Unidades	Valores Belugas	Valores D. Moteado
Albúmina	g/L	29-53	24-54
Alfa-1 globulina	g/L	1-8	5-7.8
Alfa-2 globulina	g/L	3-13	1.6-11.3
Beta-1 globulina	g/L	1-13	2.2
Beta-2 globulina	g/L	2-11	2.0-4.5
Gamma globulina	g/L	9-34	9.2-30.2

Cuadro 3. Valores de referencia para el hemograma (ISIS)³⁴ en el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*).

Prueba	Unidades	Media	Rango
Hematócrito	L/L	0.411	0.312-0.518
Eritrocitos	X10 ¹² /L	3.32	2.31-4.73
Leucocitos	X10 ⁹ /L	7.097	3.0-16.90
Neutrófilos	X10 ⁹ /L	4.670	1.330-11.30
Linfocitos	X10 ⁹ /L	1.332	0.090-6.120
Monocitos	X10 ⁹ /L	0.239	0.019-1.120
Eosinófilos	X10 ⁹ /L	0.830	0.005-4.485

Cuadro 4. Valores de referencia para la bioquímica clínica (ISIS)³⁴ en el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*).

Prueba	Unidades	Media	Rango
Glucosa	mmol/L	5.772	3.053-13.88
Urea	mmol/L	16.78	0.0-27.13
Creatinina	μmol/L	133	71-256
Colesterol	mmol/L	4.668	2.124-9.738
ALT	U/L	41	0-123
AST	U/L	272	0-676
FAS	U/L	521	70-2714
GGT	U/L	59	14-336
Proteínas t.	g/L	69	50-85
Albúmina	g/L	40	21-59
Globulina	g/L	29	12-45
Calcio	mmol/L	2.30	0.00-2.93
Fósforo	mmol/L	1.49	0.00-2.45
Potasio	mmol/L	3.7	0.00-6.1
Sodio	mmol/L	155	0-177
Cloro	mmol/L	120	101-138
Bicarbonato	mmol/L	26.0	19.0-35.0

Justificación

Debido al creciente número de delfines *Tursiops truncatus* que se mantienen bajo condiciones de cautiverio con el propósito de entretenimiento, nado con delfines y delfinoterapia, a nivel del mar, en la Ciudad de México y en espectáculos itinerantes dentro de la República Mexicana, se consideró importante realizar la evaluación del patrón electroforético de proteínas séricas, hemograma, perfiles hepático y renal de las muestras sanguíneas que se obtuvieron de estos mamíferos marinos.

Hipótesis

Si los distintos grupos de delfines en condiciones de cautiverio en México se encuentran clínicamente sanos, entonces no se observarán variaciones hematológicas en las proteínas séricas, hemograma y perfiles hepático y renal con respecto a los valores reportados en la literatura para esta especie.

Objetivo general

Evaluar los valores sanguíneos normales de delfines clínicamente sanos de distintas edades y sexos mantenidos bajo condiciones de cautiverio destinados a la realización de espectáculos, nado con delfines y delfinoterapia, mediante la aplicación de técnicas de electroforesis, hematología y bioquímica clínica para obtener información nueva y compararla con la literatura para obtener valores de referencia que sean de utilidad para la clínica e investigación de las toninas en México.

Objetivos específicos

1. Determinar el patrón electroforético del suero, mediante la técnica de electroforesis zonal para obtener los valores de proteínas séricas, integrar información de patrones electroforéticos de los delfines y promover la investigación y realización de dicha prueba como herramienta diagnóstica para la medicina en cetáceos.
2. Determinar los conteos de células sanguíneas mediante las pruebas de Ht, cuenta de eritrocitos y leucocitos y cuenta diferencial para obtener valores sanguíneos de referencia en estos delfines.
3. Determinar los perfiles hepático y renal mediante un espectrofotómetro automatizado para obtener valores sanguíneos de referencia y evaluar diferencias y similitudes en los parámetros que componen estas pruebas con especies de mamíferos terrestres.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

En este trabajo se utilizaron 15 delfines mantenidos bajo condiciones de cautiverio de cinco delfinarios encontrados dentro de la República Mexicana que se enlistan en el Cuadro 1.

Se obtuvieron muestras de los seis delfines (*Tursiops truncatus*) que componen la población total de cetáceos bajo condiciones de cautiverio para nado con delfines del delfinario Delfiniti de México S. A. de C. V.⁴⁹ ubicado en Ixtapa-Zihuatanejo en el Estado de Guerrero; 2 delfines que componen la población total del delfinario ubicado en el parque Six Flags S. A. de C. V.,⁴⁹ encontrados bajo condiciones de cautiverio en la Ciudad de México para realizar espectáculos; cuatro de cinco delfines, que componen la población total de los delfinarios de la empresa CONVIMAR S. A. de C. V. (Aragón, Atlantis)⁴⁹ encontrados bajo condiciones de cautiverio en la Ciudad de México para realizar espectáculos y delfinoterapia. Uno de los animales de la población antes mencionada no se incluyó en el estudio por encontrarse en un entrenamiento que no permitió interferencia durante el periodo de muestreo para este trabajo. Finalmente, tres delfines del mismo género propiedad de la empresa CONVIMAR S. A. de C. V. (Ferias III)⁴⁹ que realizan espectáculos itinerantes dentro de la República Mexicana.

Las condiciones de cautiverio de los delfines utilizados en este estudio, tales como las dimensiones mínimas de los contenedores, dietas y alimentación, calidad del agua, eliminación de desechos, condiciones de exhibición, las características de los contenedores de transporte entre otras, están reguladas y estandarizadas para todos los delfinarios por la NOM-135-SEMARNAT-2004⁴⁹. Todas las muestras fueron obtenidas de cetáceos

clínicamente sanos por médicos veterinarios encargados de cada una de las instituciones antes mencionadas.

Cuadro 1. Delfines de las distintas poblaciones de delfinarios en México de los que se obtuvieron muestras sanguíneas.

Hábitat	Nombre	Edad	Género	Empresa
Nivel del mar	Chame	5 años	Macho	Delfiniti
Nivel del mar	Chocho	9 años	Macho	Delfiniti
Nivel del mar	Brisa	12 años	Hembra	Delfiniti
Nivel del mar	Lluvia	14 años	Hembra	Delfiniti
Nivel del mar	Kaly	7 años	Hembra	Delfiniti
Nivel del mar	Mía	1 año	Hembra	Delfiniti
Cd. De Méx.	Hanna	15 años	Hembra	Six Flags
Cd. De Méx.	Tango	12 años	Macho	Six Flags
Cd. De Méx.	Isis	17 años	Hembra	CONVIMAR
Cd. De Méx.	Holbox	16 años	Macho	CONVIMAR
Cd. De Méx.	Osiris	8 años	Hembra	CONVIMAR
Cd. De Méx.	Tamy	3 años	Hembra	CONVIMAR
Itinerante	Akyra	9 años	Hembra	CONVIMAR
Itinerante	Vayron	9 años	Macho	CONVIMAR
Itinerante	Zeus	8 años	Macho	CONVIMAR

Obtención de muestras sanguíneas

Se pueden localizar diversos sitios de venopunción en cetáceos: el pedúnculo caudal, la vena superficial localizada en el surco de la aleta caudal, la vena de la aleta pectoral entre otros^{8, 35, 39 50}. El sitio de elección para obtener una muestra sanguínea dependerá de diversos factores, desde la predilección del médico que esté realizando la maniobra, el entrenamiento previo que el animal haya recibido, la relación entre el animal y el entrenador con quien esté trabajando, hasta el estado físico y emocional del delfín. En los delfinarios de los que se obtuvieron las muestras, los sitios más frecuentes de venopunción fueron el pedúnculo y el surco caudal.

Los delfines en cautiverio, ya sean de investigación, delfinoterapia o espectáculo, reciben entrenamiento constante en donde además de trabajar con ellos a través de estímulos, se trata de enriquecer el ambiente para mantener las condiciones más adecuadas posibles. Dentro de este entrenamiento se logra la familiarización del animal con los procedimientos de muestreo que se realizan como parte de los estudios de rutina para el constante monitoreo de su estado de salud. Esto garantiza una habituación del animal y la disminución del estrés normal al que se somete a un animal al realizar dichos muestreos que contribuirá a disminuir las variaciones fisiológicas en los conteos celulares³⁶.

Para la obtención de una muestra sanguínea, el delfín debe trabajar con el entrenador y el médico. El animal adopta una posición adecuada para acceder al sitio elegido, se hace la asepsia de la zona de punción con solución yodada, se punza la vena con una aguja y se inserta un tubo estéril y al vacío permitiendo que la sangre resbale por las paredes y se evite la hemólisis. Una vez obtenida la muestra, se retira el tubo y después la aguja, finalmente se ejerce ligera presión para realizar hemostasis.

Toma de muestras

Se tomó una muestra de 5 mL. de sangre en tubos *venoject*[®] 7 mL con anticoagulante EDTA (K₃) y una muestra de 5 mL. de sangre sin anticoagulante en tubos *venoject*[®] 6 mL. para la obtención de suero de cada uno de los tursiones por venopunción de la vena superficial del surco caudal o pedúnculo caudal con agujas o mariposas del número 21Gx3/4''.

Conservación y transporte

Las muestras fueron transportadas en un contenedor de unicel para disminuir el movimiento y choque térmico dentro de una hielera con refrigerantes. Todas las muestras se procesaron en el laboratorio en un lapso menor a 24 horas a partir del momento de la colecta, que es el tiempo límite que menciona la literatura para que la muestra no presente alteraciones que puedan modificar los resultados de las pruebas³⁶.

Electroforesis

La determinación del patrón electroforético se realizó con el suero obtenido de las muestras sanguíneas sin anticoagulante. El suero se centrifugó durante una hora a 13 000 rpm para suspender la mayor cantidad posible de lípidos y que estos no interfirieran con la técnica de electroforesis. Se aplicó la técnica de electroforesis zonal a partir de tiras activadas de acetato de celulosa *Cellogel*[®] durante una hora/110 volts con solución amortiguadora Tris/glicina, preparada con 14.1g de tris y 22.6g de glicina/litro de agua destilada. Los baños de tinción y decoloración y el tratamiento final de las tiras se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante⁵¹. Los valores se obtuvieron con un espectrodensitómetro y se

graficaron en la hoja de cálculo electrónica *Excel*[®]. Las pruebas de electroforesis se realizaron en el laboratorio de Serología del departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Hemograma

Este análisis se realizó con la sangre obtenida con EDTA. Se procesaron las pruebas de hematócrito (Ht) por el método de microhematócrito, cuenta de eritrocitos y leucocitos con hemocitómetro de *Newbauer* y cuenta diferencial sobre frotis teñido con *Wright*, la metodología que se siguió se encuentra en el manual de Benjamín MM⁵².

Bioquímica clínica

Los perfiles renal y hepático se realizaron a partir del suero obtenido de las muestras sanguíneas sin anticoagulante y fueron procesadas mediante el espectrofotómetro automatizado *Cobas Miras de Roche* refrigerado.

Todas las pruebas del hemograma y bioquímica clínica fueron realizadas por el personal de la sección de Patología Clínica del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del patrón electroforético, perfiles renal y hepático se analizaron con estadística descriptiva en la hoja de cálculo electrónica *Excel*[®].

RESULTADOS

Electroforesis

En la observación directa de los sueros, previa a la realización de la técnica de electroforesis, se determinó la presencia de lípidos en las muestras y al realizar la prueba no se obtuvieron resultados que se pudieran analizar con el espectrodensitómetro. Esta fue la razón para someter las muestras a un ciclo de centrifugación y así tratar de suspender la mayor cantidad de lípidos posible.

La remoción de lípidos de las muestras de suero es necesaria ya que estos pueden atrapar a las proteínas en micelas o emulsiones cambiando sus densidades de carga y afectar de esta manera la electroforesis. La presencia de electrolitos también puede alterar el pH del amortiguador, la densidad de carga, la distancia de corrimiento y la separación de las fracciones proteínicas⁵³.

Después de realizar la técnica de electroforesis con los sueros de los delfines, se calcularon las medias para cada fracción proteínica. Se analizaron los sueros obtenidos de los 15 delfines, sin embargo, se utilizaron únicamente los resultados de 12 ya que los corrimientos del resto de los sueros no fueron detectados por el espectrodensitómetro.

En el Cuadro 2 se presentan los valores promedio para cada uno de los electroforetogramas realizados a los sueros.

Cuadro 2. Valores obtenidos en g/L del promedio de las lecturas de cada uno de los electroforetogramas realizados a las muestras de suero analizadas.

Delfin	Unidades	Prealbúmina	Albúmina	α -1	α -2	β -1	β -2	γ globulinas
Mia	g/L		82.2	5.414	1.257	2.471	2.257	7.6711
Brisa	g/L		82.96	2.2	6.52	3.975	0.78	5.0666
Lluvia	g/L		78.5	1.7	4.3	3.9	9.325	11.7655
Chame	g/L		73.525	6.125	6.2	6.675	2.275	5.1755
Kaly	g/L	3.2	63.725	2.25	8.457	5.114	11.076	5.8877
Chocho	g/L	1.65	77.93	7.45		6.9		5.7755
Akira	g/L		83.862	2.985	2.7	2.487	4.775	3.2999
Isis	g/L	1.3	75.887	1.75	4.7	8.971		7.6711
Holbox	g/L	1.275	72.137	0.45	5.828	12.4		7.7577
Tamy	g/L	1.7	67.375	2.95	7.128	12.525		8.11
Vayron	g/L	1.35	66.77	3.61	2.58	1.39		23.955
Zeus	g/L		78.822	1.24	2.5	13		3.911

En el Cuadro 3 se muestran las medias para cada una de las fracciones proteínicas que se calcularon a partir de los promedios obtenidos de las lecturas realizadas en el espectrodensitómetro de las electroforesis individuales de los sueros analizados.

Cuadro 3. Medias obtenidas de la electroforesis de 12/15 sueros de los animales de estudio.

Fracciones Proteínicas	Unidades	Media
Albúmina	g/L	75.30
Alfa-1 globulina	g/L	3.17
Alfa-2 globulina	g/L	4.74
Beta-1 globulina	g/L	6.65
Beta-2 globulina	g/L	5.08
Gamma globulina	g/L	8.0

En la Figura 1 y Figura 2 se observa cómo se distribuyeron las proteínas en bandas a lo largo de la tira de acetato de celulosa, mismas que fueron detectadas por el espectrodensitómetro y expresadas en g/L.

Figura 1. Foto de la tiras de acetato de celulosa *Cellogel*® después de realizar toda la técnica de electroforesis.

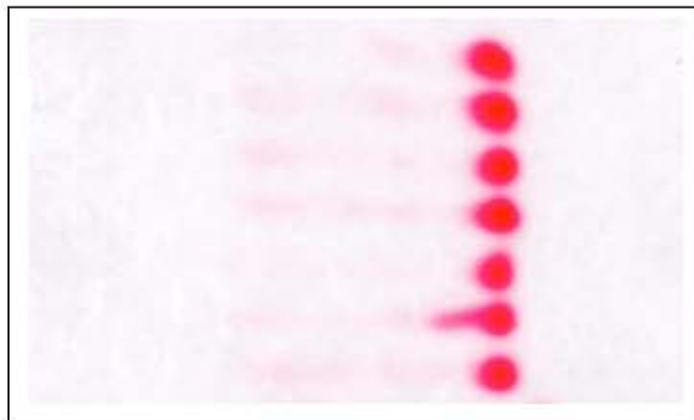
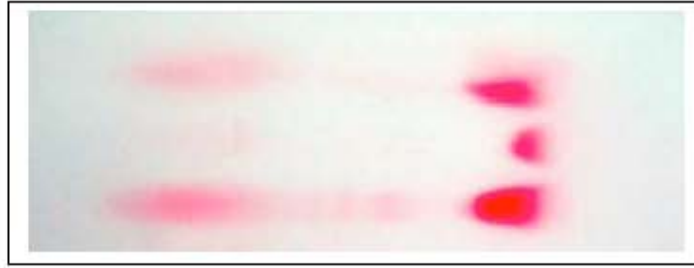
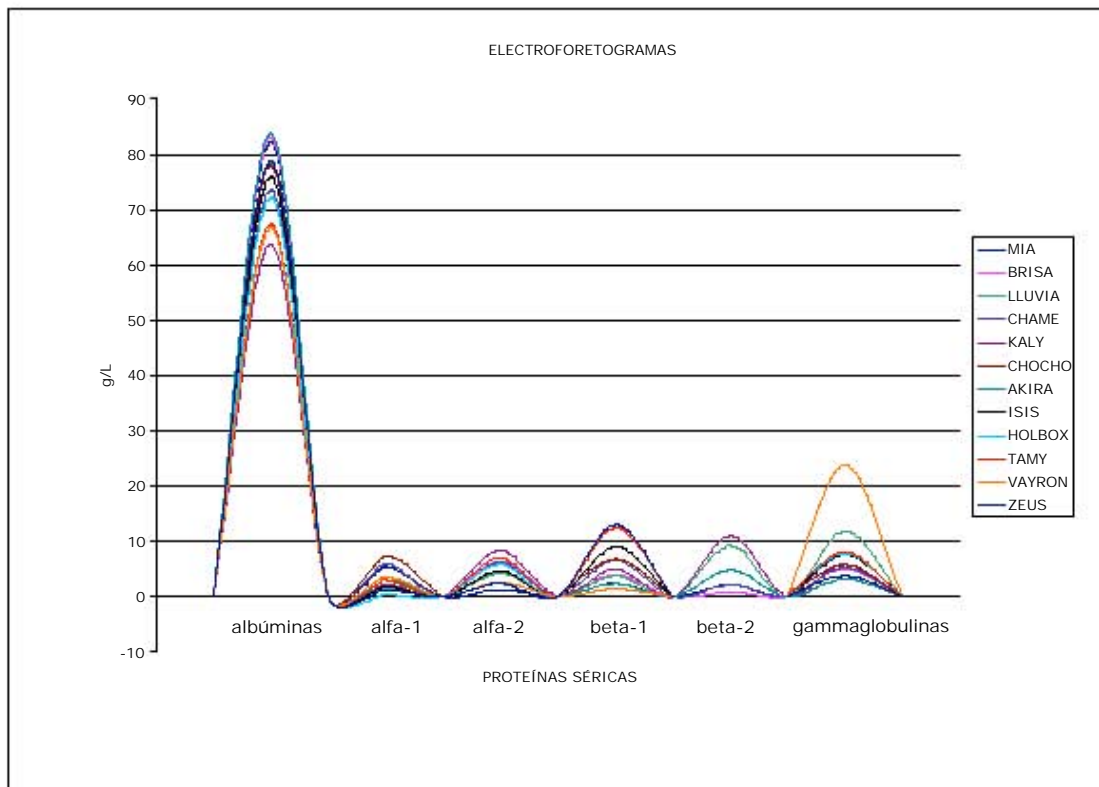


Figura 2. Foto de la tiras de acetato de celulosa *Cellogel*® después de realizar toda la técnica de electroforesis.



Las gráficas obtenidas con los datos del Cuadro 2 para cada una de las muestras analizadas se muestran en la Figura 1 donde se observan las curvas de las distintas fracciones proteínicas. Para la muestra de Vayron se observa claramente que no se obtuvo valor para la fracción β -2 y un valor alto para las γ globulinas.

Figura 2. Gráfica comparativa de los electroforetogramas obtenidos para cada una de los sueros analizados.



Hemograma

Después de realizar los hemogramas se analizaron los resultados. Se calcularon las medias y rangos a partir de los datos individuales para poder observar el comportamiento con respecto a los valores reportados en la literatura³⁴.

En el Cuadro 4 se muestran los valores de los parámetros del hemograma para cada una de las muestras analizadas. Se observa que los leucocitos y neutrófilos para Akyra y Vayron se encontraron por encima de los valores reportados en la literatura³⁴.

Cuadro 4. Resultados individuales de los parámetros del hemograma de las 15 muestras analizadas.

Nombre	Ht	Eritrocitos	Leucocitos	Neutrófilos	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos
	L/L	X10 ¹² /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L
Chame	0.39	3.93	5	1.8	2.3	0.2	0.7
Chocho	0.37	4.5	4	1.6	1.9	0.2	0.4
Brisa	0.41	3.75	7	2.1	3.2	0.4	1.3
Lluvia	0.34	3.29	4	1.6	1.8	0.1	0.5
Kaly	0.38	4.5	4.3	1.7	1.8	0.3	0.5
Mía	0.35	3.88	9.2	3.1	5.3	0.4	0.4
Hanna	0.43	3.94	8.9	6.2	1.5	0.6	0.6
Tango	0.39	3.57	11.3	7.5	2.8	0.4	0.6
Akyra	0.46	4.01	24.4	16.1	5.1	0.7	2.5
Zeus	0.4	3.7	9.5	6.5	1.2	0.1	1.7
Isis	0.47	3.9	7.6	6	1.2	0.3	0.1
Holbox	0.36	3.9	4.7	4.1	0.2	0.3	0.1
Vayron	0.4	3.3	21.8	15.7	3.7	0.9	1.5
Tamy	0.42	3.9	6.1	4.5	1	0.2	0.4
Osiris	0.47	3.9	7.6	6	1.2	0.3	0.1

En el Cuadro 5 se muestran las medias y los rangos obtenidos para cada uno de los parámetros del hemograma, estas se calcularon a partir de los resultados individuales de las 15 muestras analizadas. Se puede observar que los leucocitos y los neutrófilos mostraron un rango que se encuentra por encima de lo reportado en la literatura³⁴.

Cuadro 5. Medias y rangos calculados para los parámetros del hemograma de las muestras analizadas.

Prueba	Unidades	Media	Rango
Hematócrito	L/L	0.40	0.35-0.47
Eritrocitos	X10 ¹² /L	3.86	3.29-4.5
Leucocitos	X10 ⁹ /L	9.02	4-24.4
Neutrófilos	X10 ⁹ /L	5.63	1.6-16.1
Linfocitos	X10 ⁹ /L	2.28	1-5.3
Monocitos	X10 ⁹ /L	0.36	0.1-0.9
Eosinófilos	X10 ⁹ /L	0.76	0.1-2.5

Para observar los valores de los parámetros del hemograma de los animales que se encuentran a nivel del mar y los que viven a un nivel diferente, cada uno con respecto a los valores reportados en la literatura, se integraron en el grupo 1 la población completa del delfinario Delfiniti y en el grupo 2 los animales itinerantes junto con los que viven en la Ciudad de México.

En el Cuadro 6 se muestran las medias para los parámetros del hemograma para cada grupo con sus respectivos rangos. Se puede observar que para los leucocitos y neutrófilos

los rangos obtenidos de los delfines que se encuentran en delfinarios en la Ciudad de México y los itinerantes se encontraron por encima de los reportados en la literatura³⁴.

Cuadro 6. Medias y rangos para los parámetros del hemograma para el grupo 1: población de delfines a nivel del mar y grupo 2: población de delfines de la Ciudad de México e itinerantes.

Grupo	Hematócrito	Eritrocitos	Leucocitos	Neutrófilos	Linfocitos	Monocitos	Eosinófilos
	L/L	X10 ¹² /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L	X10 ⁹ /L
1	0.37	3.97	5.58	1.98	2.71	0.26	0.63
Rango	0.34-0.41	3.75-4.5	4-9.2	1.6-3.1	1.8-5.3	0.1-0.4	0.4-1.3
2	0.42	3.79	11.32	8.06	1.98	0.42	0.84
Rango	0.36-0.47	3.3-4.01	4.7-24.4	6-16.1	0.2-5.1	0.1-0.9	0.1-2.5

Para observar diferencias en los parámetros del hemograma en animales de distintas edades con respecto a la literatura³⁴, se integraron 3 grupos de la población total de animales analizados con base en la madurez sexual de la especie y al ser una muestra pequeña, se trató que cada uno de los grupos tuviera la misma cantidad de animales, razón por la cual hay un tercer grupo de animales adultos. El grupo 1 se constituyó por cuatro delfines de 0 a 7 años, el grupo 2 por cinco delfines de 8 a 10 años y el grupo 3 por seis delfines de 11 en adelante. Posteriormente se calcularon medias y sus respectivos rangos para los parámetros del hemograma de cada uno de los grupos.

En el Cuadro 7 se presentan las medias y los rangos para cada uno de los 3 grupos. Se puede observar que los rangos tanto de los leucocitos como de los neutrófilos se encontraron por encima de los reportados en la literatura³⁴.

Cuadro 7. Medias y rangos de los parámetros del hemograma de 3 grupos de delfines de distintas edades.

Prueba	Unidades	Grupo 1	Rango	Grupo 2	Rango	Grupo 3	Rango
		0-7 Años		8-10 Años		11-17 Años	
Hematócrito	L/L	0.38	0.35-0.42	0.42	0.37-0.47	0.4	0.36-0.47
Eritrocitos	X10 ¹² /L	4.05	3.9-4.5	3.88	3.3-4.5	3.72	3.29-3.94
Leucocitos	X10 ⁹ /L	6.15	4.3-9.2	13.46	4-24.4	7.25	4-11.3
Neutrófilos	X10 ⁹ /L	2.77	1.7-4.5	9.18	1.6-16.1	4.58	1.6-7.5
Linfocitos	X10 ⁹ /L	2.6	1-5.3	2.62	1.2-5.1	1.78	0.2-3.2
Monocitos	X10 ⁹ /L	0.27	0.2-0.4	0.44	0.1-0.9	0.35	0.1-0.6
Eosinófilos	X10 ⁹ /L	0.5	0.4-0.7	1.24	0.1-1.7	0.53	0.1-1.3

Bioquímica clínica

Después de la determinación automatizada de los perfiles hepático y renal de cada uno de los sueros analizados, se procesaron los resultados.

En el Cuadro 8 y Cuadro 9 se presentan los resultados individuales para los parámetros de la bioquímica clínica de 14 muestras analizadas, el suero de la hembra Hanna no fue suficiente para que el equipo pudiera procesarlo, por lo que no se determinó.

Cuadro 8. Resultados individuales de los parámetros de la bioquímica clínica de las 14 muestras analizadas.

Prueba	Glucosa	Urea	Creatinina	Colesterol	ALT	AST	FAS	GGT
Unidades	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	U/L	U/L	U/L	U/L
Chame	5	19	123	5.7	10	228	729	30
Chocho	4	17.8	116	4.04	47	325	493	35
Brisa	4	17.2	135	4.9	40	263	715	30
Lluvia	4	19.2	150	3.87	20	184	387	37
Kaly	4	18.7	150	4.77	28	279	1203	38
Mía	5	21.6	90	5.11	36	239	1665	32
Tango	4.89	12.7	137	4.5	26	171	483	27
Akyra	9.59	20.9	109.4	5.36	16	136	185	30
Zeus	5.28	18.8	111	3.44	18	144	533	16
Isis	5.45	19.6	146	4.11	22	221	130	19
Holbox	5.23	23.2	107	4.17	26	251	112	21
Bayron	6.59	20.7	70.2	3.14	25	142	148	30
Tamy	6.14	20.6	71	5.11	50	369	155	30
Osiris	4.75	18.5	65	4.39	25	209	141	32

Cuadro 9. Resultados individuales de los parámetros de la bioquímica clínica de las 14 muestras analizadas.

Prueba	Proteínas t.	Albúmina	Globulina	Calcio	Fósforo	Potasio	Sodio	Cloro	Bicarbonato
Unidades	g/L	g/L	g/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L	mmol/L
Chame	65	41	24	2.26	1.82	5.75	153	120	20
Chocho	61	40	21	2.2	2.2	3.34	153	116	24
Brisa	61	37	24	3.05	1.65	3.39	154	117	26
Lluvia	65	41	24	2.18	1.5	3.56	153	116	27
Kaly	60	37	23	2.24	1.31	3.37	153	116	26
Mía	62	43	19	2.42	1.83	3.83	152	112	28
Tango	67	45	22	2.38	1.19	3.42	150	118	22
Akyra	74	47	27	2.47	1.25	3.53	154	119	19
Zeus	64	33	31	2.1	1.71	3.44	144	113	20
Isis	79	47	32	2.53	1.3	3.57	158	124	27
Holbox	61	39	22	2.22	1.18	3.3	158	125	31
Bayron	74	44	30	1.85	1.66	4.2	155	122	29
Tamy	67	42	25	2.3	1.62	5.29	158	122	31
Osiris	68	45	23	2.24	1.5	4.13	161	127	30

En el Cuadro 10 se presentan las medias y los rangos calculados a partir de los resultados individuales de los sueros analizados para las pruebas comprendidas en la bioquímica clínica.

Cuadro 10. Medias de los parámetros de la Bioquímica Clínica de los sueros analizados.

Prueba	Unidades	Media	Rango
Glucosa	mmol/L	5.28	4-9.59
Urea	mmol/L	19.18	17.2-23.2
Creatinina	μmol/L	112.90	65-150
Colesterol	mmol/L	4.47	3.44-5.7
ALT	U/L	27.79	10-47
AST	U/L	225.79	142-369
FAS	U/L	505.64	112-1665
GGT	U/L	29.07	16-37
Proteínas t.	g/L	66.29	61-74
Albúmina	g/L	41.50	33-47
Globulina	g/L	24.79	19-32
Calcio	mmol/L	2.32	1.85-3.05
Fósforo	mmol/L	1.55	1.3-1.83
Potasio	mmol/L	3.87	3.3-5.75
Sodio	mmol/L	154	144-161
Cloro	mmol/L	119.7	113-127
Bicarbonato	mmol/L	25.71	19-31

DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluaron el patrón electroforético de proteínas séricas, el hemograma, el perfil hepático y renal en algunas poblaciones de delfines mantenidos en cautiverio en México.

No se debe perder de vista que los valores reportados por distintos autores para la electroforesis, perfil hepático y renal en la gran mayoría de las ocasiones se han obtenido por distintas técnicas de laboratorio y aparatos de marcas y calibraciones diversas^{Error! Bookmark not defined.}. Por lo que no se debe crear una “visión de túnel” al analizar los parámetros que difieran mucho de los valores normales para la especie, si no que se debe realizar un análisis global de resultados. Al no tener patrones electroforéticos previos de estas poblaciones de delfines con los que se pudiera confrontar la información obtenida, no se obtuvo un patrón electroforético confiable que pudiera ser de ayuda clínica en el tratamiento de los animales.

En el Cuadro 3 se observa que los valores de albúmina obtenidos difieren de los reportados previamente para la especie estudiada, la media obtenida para la albúmina fue mayor con respecto a lo reportado para diversas especies de odontocetos^{34, 42, 48}; una media para α -1 y α -2 que coincidieron con los valores reportados para belugas y delfín moteado, una media para β -1 y β -2 correspondiente al valor reportado para belugas y una media para γ globulinas que se encontró dentro de los valores reportados para delfín nariz de botella y por debajo a los de las otras especies.

En la evaluación electroforética del suero, dependiendo de la especie que se trate, puede haber una o dos fracciones de α y β globulinas respectivamente, esta variabilidad entre especies puede causar confusión en el intento de establecer patrones normales para

animales no domésticos⁵⁴. Los primeros estudios comparativos entre diversos métodos electroforéticos incluso reportan hasta tres fracciones para α globulina^{Error! Bookmark not defined.} al igual que la base de datos ISIS^{Error! Bookmark not defined.}.

En la literatura se menciona que la velocidad de migración de las proteínas se verá afectada por el pH, la fuerza iónica y la composición de la solución amortiguadora utilizada en la técnica de electroforesis⁵⁵. Otros investigadores, apoyados en estudios extensos realizados en diversas especies, aseguran que los valores de los constituyentes séricos pueden variar por regiones geográficas⁵⁶, por lo que se debe tener precaución al tratar de comparar los resultados con los valores publicados en la literatura.

En la Figura 2 se observa una aparente hiperglobulinemia en Vayron, la cual pudo presentarse por una inadecuada separación de la fracción β -2 de las γ globulinas causando un incremento de esta última fracción. Si tomamos en cuenta los resultados del hemograma de este delfín, el aumento de la fracción γ también podría atribuirse a una respuesta inflamatoria crónica, que estaría provocando leucocitosis y neutrofilia. Al momento de tomar la muestra hubiera sido necesario, para un diagnóstico definitivo, realizar estudios bacteriológicos adicionales y haber detectado en la inspección diaria, conductas anormales como aislamiento y anorexia que pudieran ser indicativas de enfermedad en el animal o marcas en la piel como laceraciones producto de juegos e interacción entre los animales.

Al observar el comportamiento de las proteínas séricas del presente estudio es de suponer que bajo las mismas condiciones de muestreo y el análisis electroforético del suero, las proteínas séricas de las tres especies de odontocetos tengan un comportamiento similar. Sin embargo no se logró determinar la metodología electroforética utilizada en la mayoría de la literatura revisada^{34, 42, 48}, y al no estandarizarse las técnicas, los resultados

pueden ser alterados por mínimas que sean las variables que se presenten. La forma más adecuada de establecer patrones para estas especies no domésticas es la de estudios séricos rutinarios y la recopilación de información para cada uno de los delfines mantenidos en cautiverio⁴⁸.

Al realizar la evaluación del hemograma se analizaron los datos desde distintas perspectivas para poder detectar si existían diferencias contra lo publicado en ISIS³⁴.

En el Cuadro 4 donde se muestran los parámetros del hemograma para todos los individuos estudiados, no se apreciaron valores fuera de los rangos establecidos en las bases de datos, sin embargo Akira y Vayron presentaron leucocitos y neutrófilos por encima de los rangos reportados considerados normales³⁴.

Por cuanto al hemograma se refiere, se ha descrito la presencia del leucograma de estrés, que incluye: leucocitosis, neutrofilia, eosinopenia y linfopenia, en delfines nariz de botella, sometidos a rutinas de transportación. Esto indica que los mamíferos marinos, al igual que las especies terrestres, presentan similar sensibilidad en el sistema inmune presentando cambios hormonales relacionados con estrés⁵⁷.

En los mamíferos, cuando se presentan factores desencadenantes de estrés como el transporte, confinamiento, manejo, ejercicio extenuante, entre otros, se estimula la secreción de ACTH de la hipófisis anterior, misma que estimula a la corteza suprarrenal para secretar aldosterona, cortisol y corticosteroides y de esta forma desarrollar una respuesta defensiva metabólica y circulatoria⁵⁸.

La aldosterona se encarga de modificar la excreción de Na y K⁵⁸. Es de suponerse que en mamíferos marinos la liberación de este mineralocorticoide se debe a una adaptación para mantener el balance electrolítico y de fluidos bajo condiciones estresantes⁴⁸.

En los cetáceos, al igual que en otras especies de mamíferos terrestres es común encontrar neutrofilia fisiológica debido a la liberación de epinefrina y corticosteroides durante rutinas de ejercicio o excitación, por lo que es importante no confundirla con una neutrofilia patológica.

Los corticosteroides pueden producir un aumento hasta de cuatro veces de los neutrófilos en sangre periférica de perros, bovinos y caballos^{52, 58}.

En la literatura se menciona la presencia de leucocitosis neutrofílica fisiológica provocada por la liberación de epinefrina y por un aumento en la actividad muscular manteniendo los eosinófilos y linfocitos en conteos dentro de la normalidad^{44, 52, 57}.

Akira y Vayron son delfines que realizan espectáculos itinerantes alrededor de la República Mexicana. Es posible que la transportación y la adaptación de estos animales a los distintos sitios de espectáculo, hayan provocado la leucocitosis y neutrofilia, y no se trate de aumento patológico de estos parámetros. Sin embargo, Zeus también es un delfín que se encuentra dentro del rubro de itinerante y sus valores se encontraron dentro de los rangos normales, lo que vuelve a sugerir haber aplicado otro tipo de pruebas bacteriológicas que descartaran la posibilidad de una enfermedad subclínica.

En el análisis del hemograma mostrado en el Cuadro 5 se encontraron variaciones en los rangos calculados para leucocitos y neutrófilos con respecto a los valores reportados en la literatura³⁴, esto se debió a que los valores altos obtenidos de estos analitos para Akira y Vayron fueron tomados en cuenta.

En el Cuadro 6 se observa de nuevo una elevación en los rangos de leucocitos y neutrófilos para el grupo 2 con respecto a lo reportado previamente³⁴. En este grupo se encuentran incluidos los animales itinerantes.

Los delfines que se encuentran en el delfinario a nivel del mar, están sometidos a rutinas menos demandantes que los que se encuentran en la Ciudad de México o los itinerantes, ya que los primeros participan principalmente en programas de nado con delfines con intervalos de descanso amplios y no tienen que enfrentarse a factores ambientales tan inclementes como podría suceder en las ciudades. Por el contrario los delfines itinerantes están sometidos a transportación, cambio de condiciones del agua y temperatura ambiental, entre otros, además de tener que realizar sus rutinas de espectáculo y delfinoterapia.

En el Cuadro 7, donde se observa a los animales agrupados por edades, no se encontraron discrepancias en los valores y rangos obtenidos por grupos con respecto a lo publicado anteriormente³⁴. Los rangos de leucocitos y neutrófilos se encontraron por encima de los rangos establecidos en la literatura, esto se debió a la inclusión de Akira y Vayron dentro del grupo 2, por lo que el resultado no puede atribuirse a la edad.

Existen dos posibles teorías de la evolución de los cetáceos, la más reciente considera que los cetáceos están filogenéticamente más relacionados con los artiodáctilos que con otros mamíferos terrestres como podrían ser los carnívoros o primates¹¹. Incluso dentro de la base de datos taxonómica se encuentra el superorden *Cetartiodactyla* que incluye a los rumiantes, suinos y cetáceos⁵⁹.

Se compararon los valores obtenidos para hematócrito, eritrocitos y eosinófilos de los delfines (Cuadro 5) y los valores que reporta la literatura para otros mamíferos⁶⁰ y se observó que los valores de las toninas para el hematócrito (0.35-0.47 L/L) fueron muy cercanos a los valores máximos normales en bovinos (0.24-0.46 L/L) y cerdos (0.32-0.50 L/L). Los valores para glóbulos rojos ($3.29-4.5 \times 10^{12}/L$) fueron menores a los de bovinos

(5.0-10.0 $\times 10^{12}/L$) y cerdos (6.8-12.9 $\times 10^{12}/L$) y los valores para los eosinófilos estuvieron por encima en el caso de los delfines (0.1-2.5 $\times 10^9/L$) con respecto a los valores reportados para bovinos (0-2.4 $\times 10^9/L$) y cerdos (- $\times 10^9/L$).

Si se evalúan algunos analitos del hemograma de los cetáceos se pueden encontrar algunas diferencias con respecto a estos mamíferos terrestres. El hematócrito suele tener un valor más elevado en mamíferos marinos, que se debe a una mayor viscosidad y volumen sanguíneos⁶¹, esta característica se debe a que el 90% de los almacenes de oxígeno se encuentran en sangre y en músculos. El conteo de eritrocitos en mamíferos marinos es menor que en los mamíferos terrestres, en contraste, los eosinófilos son los segundos granulocitos circulantes encontrados en mayor abundancia en los delfines nariz de botella, además de tener cuentas más altas que el resto de los mamíferos marinos³³.

Las medias obtenidas para la bioquímica clínica que se muestran en el análisis del Cuadro 10 no presentaron discrepancias con respecto a los valores normales reportados en la literatura para la especie. No obstante, al observarse contra los valores para mamíferos domésticos se pudo determinar que el rango obtenido para la glucosa (4-9.59 mmol/L) se elevó por encima de los valores máximos reportados para bovinos (1.9-3.8 mmol/L) y cerdos (3.6-5.3 mmol/L). El mismo caso se presentó en las concentraciones de sodio ya que para delfines el rango obtenido (144-161 mmol/L) fue mayor al reportado para bovinos (132-152 mmol/L) y cerdos (140-150 mmol/L). Por último, se comparó el valor obtenido para las concentraciones de urea y se determinó un rango (17.2-23.2 mmol/L) superior a los valores para bovinos (2.0-7.5 mmol/L) y cerdos (3.0-8.5 mmol/L).

En la bioquímica clínica de los mamíferos marinos se reportan niveles de glucosa más altos que en los animales domésticos, mismos que pueden estar mediados por la liberación

de glucocorticoides exógenos en respuesta al manejo para tomar muestras sanguíneas y para inducir a las células hepáticas a la gluconeogénesis con objeto de cubrir los requerimientos fisiológicos al realizar inmersiones. Dietas altas en proteína y grasa también pueden elevar las cantidades de glucosa en sangre³³.

De igual forma, el sodio y la urea puede reportarse en mayor proporción con respecto a los mamíferos terrestres por el agua salada y el tipo de dieta que reciben los delfines^{45, 61}.

La dieta de los delfines de este estudio se compone principalmente de calamar (*Loligo opalescens*), capelin (*Mallotus villosus*), sierra (*Scomberomorus sierra*) macarela (*Scomber japonicus*) y arenque (*Crupea harenqus*) que son altos en proteína y lípidos.

Es importante que exista información sobre estas poblaciones de delfines en particular, incluso de manera individual ya que estos grupos son heterogéneos en edades y sexos y no siempre se pueden determinar valores normales contra las medias poblacionales para el adecuado monitoreo del estado de salud.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos para la electroforesis de proteínas séricas no son concluyentes, por lo que se deben realizar más pruebas electroforéticas y determinar los constituyentes del suero de los delfines, para poder detectar si existe variación en dichos constituyentes séricos que pudieran alterar la prueba de la electroforesis. Es importante tener una mayor cantidad de información para comparar los resultados obtenidos, y en un futuro, establecer patrones electroforéticos normales para las poblaciones mexicanas de delfines nariz de botella, además de una mejor estandarización de las técnicas de laboratorio para esta especie en particular de manera que puedan ser reproducidas y sean de utilidad diagnóstica.

Los resultados muestran que las condiciones de cautiverio, manejo, así como las distintas actividades que realizan los delfines, si pueden ser factores que modifican los parámetros del hemograma.

En este trabajo se muestra que los delfines estudiados no presentan enfermedades aparentes que puedan ser detectadas por medio de las metodologías empleadas. En algunos casos sería importante realizar análisis bacteriológicos y virológicos adicionales que apoyen los resultados del hemograma y la bioquímica clínica para dar un diagnóstico definitivo en el caso de la salud de algunos individuos.

La hematología de los delfines que se mantienen bajo condiciones de cautiverio en México, no difiere sustancialmente de la reportada en cetáceos de otros países.

PROSPECTIVA

Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen al conocimiento del estado general de salud de las poblaciones de delfines muestreadas y promueven las evaluaciones hematológicas periódicas de los animales realizadas por médicos externos. De esta manera las empresas que mantienen animales en confinamiento tendrán a su disposición los conocimientos generados a partir de la investigación continua para mejorar las condiciones de vida de los delfines. Finalmente, es imperativo difundir la importancia de la investigación de los parámetros electroforéticos de las proteínas séricas para esta especie y de este modo tener más herramientas que contribuyan a la detección temprana de enfermedades en las poblaciones de delfines en cautiverio en México.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barnes LG. The Fossil Record and Evolutionary Relationships of the Genus *Tursiops*. In: Leatherwood S, Reeves RR, editors. *The Bottlenose Dolphin*. San Diego: Academic Press Inc, 1990: 3-28.
2. "*Tursiops truncatus* (Montagu 1821)" Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (Consultada: 4 de agosto de 2005) Disponible en Internet: <http://www.itis.usda.gov>.
3. Culik BM. "*Tursiops truncatus* (Montagu 1821)" Review on small cetaceans. Convention on Migratory Species (CMS) (Consultada: 3 de agosto de 2005) Disponible en Internet: http://www.cms.int/reports/small_cetaceans/data/t_truncatus/t_truncatus.html.
4. Wells RS, Scott MD. Bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu 1821). In: Ridway SH, Harrison R, editors. *Handbook of Marine Mammals vol 6, the second book of dolphins and porpoises*. San Diego CA: Academic Press, 1999: 137-166.
5. Gallo R, Rojas L. Nombres científicos y comunes de los mamíferos marinos de México. *Anales Inst Biol Ser Zool* 1986; 56: 1046-1056.
6. Ruiz BI. Distribución y abundancia de *Tursiops truncatus* Montagu, 1821 (Cetacea: Delphinidae) en la Bahía de Banderas y aguas adyacentes, México. (tesis de licenciatura). México DF: Facultad de Ciencias, U. N. A. M., 1995.
- 7 Jefferson TA, Leatherwood S. *FAO Species identification Guide: Marine Mammals of the World*. Rome: United Nations Environment Programme, 1993.
8. Rommel SA, Lowenstine LJ. Gross and microscopic anatomy. In: Dierauf LA, Gulland MD, editors. *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2001: 129-164.

9. "Physical Characteristics" (Consultada: 17 de febrero de 2005) Disponible en Internet: <http://www.seaworld.org/infobooks/Bottlenose/phyhardol.html>
10. Reynolds III JE, Odell DK, Rommel SA. Marine Mammals of the World. In: Reynolds III JE, Rommel SA, editors. Biology of marine mammals. USA: Smithsonian Institution Press, 1999: 1-14.
11. Graur D, Higgins DG. Molecular evidence for the inclusion of cetaceans within the order Artiodactyla. Mol Biol Evol 1994; 11: 357-364.
12. Racicot R, Colbert M. "*Tursiops truncatus*" Digital Morphology (En línea) (Consultada: 4 de agosto de 2005) Disponible en Internet: http://www.digimorph.org/specimens/Tursiops_truncatus/
13. Pabst A, Rommel SA, Mc Lellan WA. The functional morphology of marine mammals. In: Reynolds III JE, Rommel SA, editors. Biology of marine mammals. USA: Smithsonian Institution Press, 1999: 1-14.
14. Hohn A. Reading between the Lines: Analysis of Age Estimation in Dolphins. In: Leatherwood S, Reeves RR, editors. The Bottlenose Dolphin. San Diego: Academic Press Inc, 1990: 575-586.
15. Duffield DA, Wells RS. Bottlenose Dolphins: Comparison of Census Data From Dolphins in Captivity With a Wild Population. IMATA Proceedings, 1990.
16. López MGA. Hallazgos de la química sanguínea de una colonia de delfines (*Tursiops truncatus*) mantenidos en cautiverio en México: Estudio Recapitulativo (1982-1991). (tesis de licenciatura). México DF: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. N. A. M., 1994.

17. Tolley KA, Read AJ, Wells RS, Urian KW, *et al.* Sexual dimorphism in wildlife bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota, Florida. *J Mammal* 1995; 76: 1190-1198.
18. Hicks BD, St. Aubin DJ, Geracci JR, *et al.* Epidermal growth in the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. *J Inves Dermatol* 1985; 85: 60-63.
19. Williams TM, Haun JE, Friedl WA. The diving physiology of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). Balancing the demands of exercise for energy conservation at depth. *J Exp Biol* 1999; 202: 2739-2748.
20. Australian Government. *Dolphins and Whales in Captivity*. Canberra: Australian Government Publishing Service, 1985.
21. Corkeron P. Captivity. In: Perrin B *et al.* Editors. *Enciclopedia of Marine mammals*. San Diego, CA: Academic Press, 2002: 192-197.
22. Barstow R. Non-Consumptive Utilization of Whales. *AMBIO*. 1986; 15: 155-163.
23. Defran RH, Prior K. The behaviour and training of cetaceans in captivity. In: Herman LM, Wiley J, editors. *Cetacean behaviour: mechanisms and function*. New York: 1980.
24. Samuels A, Bejder L, Heinrich S. A review of the literature pertaining to swimming with wild dolphins. Maryland: Marine Mammal Comision, 2000.
25. "Bottle nose dolphin *Tursiops truncatus*" (Consultada: 17 de febrero de 2005)
Disponibile en Internet: <http://www.whale-web.com/dolphins/bottlenose.html>.
26. Solórzano VJL. Transporte, aclimatación y manejo de una orca *Orcinus orca* en la Ciudad de México. *Memorias del V simposium sobre fauna silvestre*; 1987 noviembre; México (DF): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia México; 1987: 205-211.

27. Odell DK, Wlodarski L. Marine parks and Zoos. In: Perrin B *et al.* editors. Enciclopedia of Marine Mammals. San Diego, CA: Academic Press, 2002: 721-723.
28. Duncan JR *et al.* Veterinary Laboratory Medicine, clinical pathology. Iowa USA: Iowa State Press, 1994.
29. Tatum LM *et al.* Protein electrophoresis as a diagnostic and prognostic tool in raptor medicine. J Zoo and Wildl Med 2000; 31: 497-502.
30. Abate O *et al.* Canine serum protein patterns using high-resolution electrophoresis (HRE). Vet J 2000; 159: 154-160.
31. Stites DP, Abba LT. Inmunología básica y clínica. México DF: Manual moderno, 1993.
32. Gallien CL *et al.* Comparative study of serum proteins in 4 dolphin species. Comp Biochem Physiol 1970; 37: 375-385.
33. Bossart GD, Reidarson TH *et al.* Clinical Pathology. In: Dierauf LA, Gulland MD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2001: 383-429.
34. International Species Information System (ISIS). *Tursiops truncatus* bottlenose dolphin. USA: 1999.
35. Bossart GD, Dierauf LA. Marine Mammal Clinical Laboratory Medicine. In: Dierauf, LA editor. Handbook of Marine Mammals Medicine. Boston USA: CRC Press, 1990: 1-30.
36. Jain N *et al.* Essentials of Veterinary Haematology. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993.
37. Ridgway SH, Simpson JG. Hematologic findings in certain small cetaceans. J Am Vet Med Assoc 1970; 157: 566-575.

38. Shirai K, Sakai T. Haematological findings in captive dolphins and whales. *Aust Vet J* 1997; 75: 512-514.
39. Asper ED, Cornell LH, *et al.* Hematology and Serum Chemistry Values in Bottlenose Dolphins. In: Leatherwood S, Reeves RR, editors. *The bottlenose dolphin*. Dan Diego, California: Academic Press, 1990: 479-485.za
40. Hendrick MS, Duffield DA. Haematological and rheological characteristics of blood in seven marine mammal species: Physiological implications for diving behaviour. *J Zool* 1991; 225: 273-283.
41. Mayer S. A Review of the Scientific Justifications for Mantaining Cetaceans in Captivity. A Report for the Whale and Dolphin Conservation Society. UK: 1998.
42. St Aubin DJ, Deguise S *et al.* Hematology and plasma chemistry as indicators of health and ecological status in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Arctic* 2001; 54: 317-331.
43. Dierauf LA. Stress in Marine Mammals. In: Dierauf LA, editor. *Handbook of Marine Mammals Medicine*. Boston USA: CRC Press, 1990: 295-301.
44. St Aubin DJ, Dierauf LA. Stress and Marine Mammals. In: Dierauf LA, Gulland MD, editors. *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2001: 253-265.
45. Malvin RL, Rayner M. Renal function and blood chemistry in cetacea. *Am J Physiol* 1968; 214: 187-191.
46. García TF. *Fundamentos de inmunología*. México: UNAM, 1997.

47. King DP, Aldridge BM *et al.* Immunology. In: Dierauf LA, Gulland MD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2001: 237-248.
48. St. Aubin DJ. Hematological and Serum Chemical Constituents in Pantropical Spotted Dolphins (*Stenella attenuata*) following chase and encirclement, administrative report. South West Fisheries Science Center, 2002.
49. Norma oficial mexicana NOM 135 SEMARNAT 2004. “*Para la regulación de la captura para investigación, transporte, exhibición y manutención de mamíferos marinos en cautiverio*”. (Consultada: 24 de junio de 2005) Disponible en Internet: <http://www.semarnat.gog.mx/dof/agosto04/shtml>.
50. Terasawa F, Kitamura M, Fujimoto A *et al.* Seasonal Changes of Blood Composition in Captive Bottlenose Dolphins, J Vet Med Sci 2002; 64: 1075-1078.
51. Chemetron. Instructions for Cellogel electrophoresis. .Milan, Italy, 1986.
52. Benjamín MM. Patología Clínica en Veterinaria. México: Ed. Limusa, 1991.
53. Hawcroft DM. Electrophoresis the basics. United Kindom: Oxford University Press, 1997.
54. Fowler ME, Miller RE. Zoo and Wild Animal Medicine, current therapy 4. USA: WB Saunders, 1999.
55. Kaneko JJ, Harvey JW *et al.* Serum proteins and the disproteinemias. In: Kaneko JJ *et al.*, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. USA: Academic Press, 1997.
56. Sharkawy AA, Serum protein electrophoresis as a valuable forensic tool for animal species identification. Assiut Vet Med J 2003; 49: 280-297.

57. Voigt GL. Conceptos y técnicas hematológicas para técnicos veterinarios. Zaragoza, España: Ed Acribia, 2000.
58. Rijnberk AD, Mol JA. Adrenocortical function. In: Kaneko JJ *et al*, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. USA: Academic Press, 1997.
59. "Taxonomy locator" (Consultada: 26 febrero 2006) Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html>.
60. Radostits OM, *et al*. Veterinary Medicine, A text book of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. London: WB Saunders, 2000.
61. Medway W, Geraci JR. Blood chemistry of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). Am J Physiol 1965; 209: 169-172.