



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA DE ANALITOS  
SELECTOS DEL HEMOGRAMA Y BIOQUÍMICA DE TONINAS  
(*Tursiops truncatus*) EN ÁREAS NATURALES DELIMITADAS EN LA  
RIVIERA MAYA

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA

**ADRIANA SALMERÓN ZÁRATE**

Asesores:  
MVZ. Angel García Hernández  
MVZ. María Concepción López Romahn

México, D.F.

2010





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

### **A MI ABUE CELIA**

Porque siempre has estado presente en todos los momentos de mi vida, porque sé que me estas cuidando desde el cielo y porque sin ti nada hubiera existido.

### **A MIS PADRES MAY Y EMILIO**

Porque me dieron el regalo de la vida, porque la ilusión de su vida ha sido hacer de mí una persona valiosa en todos los aspectos, porque sin su amor y apoyo no lo hubiera logrado, de todo corazón espero que este logro profesional lo adopten como suyo. Los amo con toda mi alma.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero quiero agradecer a Dios por regalarme la vida y por ser mi luz y guía en este largo camino, por estar dentro de mi corazón para que nunca se me olviden cuáles son las cosas importantes de la vida.

Gracias al Departamento de Producción Animal: Conejos, Abejas y Organismos Acuáticos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme la oportunidad de vivir esta experiencia única.

Quiero agradecer a las toninas, por compartir conmigo su existencia, su simpatía y carisma pero sobretodo a todas esas crías que siempre me hicieron feliz.

Gracias al Grupo Vía Delphi, al Departamento de Veterinaria, principalmente al Dr. Raúl y a la Dra. Cony por permitirme realizar este proyecto. Gracias a la Dra. Lili y todos los pasantes y estudiantes con los que compartí momentos de felicidad y de desvelo. No puedo dejar de mencionar a todo el staff de Delphinus, sobre todo a los entrenadores del delfinario Xcaret, amigos los quiero mucho, gracias por dejarme entrar en sus vidas, ¡son mi familia!.

Quiero agradecer profundamente a mis sinodales por todas sus opiniones y comentarios que hicieron mejorar mi trabajo.

Enorme gratitud a mis padres, que con el sudor de su frente me han apoyado hasta el final.

Gracias a mis hermanos por estar ahí para hacerme enojar y reír; Hugo eres un ser hermoso lleno de valores, sigue luchando por tus objetivos, ¡tú lo lograrás!; Raúl tu siempre tan inteligente y metódico, la vida te había mostrado su lado oscuro pero ahora renaces con toda la luz del universo. Los amo mucho hermanos, estoy orgullosa de ustedes, de lo que son, pero sobretodo de lo que serán.

Alex que puedo decir, creo que una mirada vale más que mil palabras, no sé que hubiera sido de mi vida sin ti; gracias por todo tu apoyo, amor, ternura y paciencia. Eres lo más importante de mi vida, te amo con todo mi corazón.

No puedo dejar de mencionar al Dr. Edgar Delgado, desde el principio creíste en mí y me apoyaste incondicionalmente para poder realizarme como profesionalista. Gracias a mi tía Malú por aguantar mis locuras y mis ratos de desesperación y ayudarme con esa horrible redacción y ortografía.

Muchas gracias a todos por su cariño.

## CONTENIDO

	Página
Resumen .....	1
Introducción .....	2
1. Anatomía y Fisiología de la Tonina .....	3
1.1. Anatomía General .....	3
1.2. Adaptaciones Anatómicas y Fisiológicas del Sistema Circulatorio .....	3
2. Patología Clínica .....	7
2.1. Factores que Influyen los Valores de Análisis de Laboratorio .....	8
2.1.1. Propios del Animal .....	8
2.1.1.1. Edad .....	9
2.1.1.2. Sexo .....	10
2.1.2. Estrés .....	10
2.1.3. Respuesta Inflamatoria .....	11
2.1.4. Obtención, Transporte, Almacenamiento y Análisis de las Muestras .....	12
2.2. Hemograma .....	13
2.2.1. Frotis Sanguíneo .....	13
2.2.2. Hematocrito .....	14
2.2.3. Número de Eritrocitos .....	15
2.2.4. Hemoglobina .....	16
2.2.5. Volumen Globular Medio .....	16
2.2.6. Concentración Globular Media de Hemoglobina .....	17
2.2.7. Velocidad de Sedimentación Globular .....	17

2.2.8. Número de Leucocitos .....	18
2.2.9. Conteo Diferencial de Leucocitos .....	19
2.3. Bioquímica Sérica .....	21
2.3.1. Proteínas Plasmáticas .....	23
2.3.1.1. Albúmina .....	23
2.3.1.2. Globulinas .....	24
2.3.2. Hierro .....	25
2.3.3. Enzimas .....	26
2.3.3.1. Alanina Aminotransferasa .....	26
2.3.3.2. Aspartato Aminotransferasa .....	27
2.3.3.3. Deshidrogenasa Láctica .....	27
2.3.3.4. Fosfatasa Alcalina .....	28
2.3.3.5. Gama Glutamiltransferasa .....	29
2.3.4. Glucosa .....	29
2.3.5. Urea .....	30
2.3.6. Creatinina .....	31
2.3.7. Colesterol .....	31
2.3.8. Triglicéridos .....	32
3. Objetivos .....	33
3.1. General .....	33
3.2. Específicos .....	33
Materiales y Método .....	35
1. Área de Estudio .....	35
1.1. Laboratorio de Análisis Clínicos .....	35
1.2. Toninas .....	35
2. Colección de Muestras Sanguíneas .....	36
3. Almacenamiento y Transporte de Muestras Sanguíneas .....	37

4. Hemograma .....	37
4.1. Frotis Sanguíneo .....	37
4.2. Hematocrito .....	37
4.3. Número de Eritrocitos .....	38
4.4. Hemoglobina .....	38
4.5. Volumen Globular Medio .....	38
4.6. Concentración Globular Media de Hemoglobina .....	38
4.7. Velocidad de Sedimentación Globular .....	39
4.8. Número de Leucocitos .....	39
4.9. Conteo Diferencial de Leucocitos .....	39
5. Bioquímica Sérica .....	40
5.1. Proteínas Plasmáticas, Albúmina, Hierro, Alanina Aminotransferasa, Aspartato Aminotransferasa, Deshidrogenasa Láctica, Fosfatasa Alcalina, Gama Glutamilttransferasa, Glucosa, Urea, Creatinina, Colesterol y Triglicéridos .....	40
5.2. Globulinas y Relación Albúmina: Globulinas .....	40
6. Análisis de Datos .....	41
6.1. Estadística Descriptiva .....	41
6.1.1. Métodos Descriptivos Gráficos .....	41
6.1.2. Métodos Descriptivos Numéricos .....	41
6.2. Estadística Inferencial .....	42
6.2.1. Categoría de Sexos .....	42
6.2.2. Categoría de Edades .....	43
Resultados .....	46
Valores de Referencia .....	46
Diferencias entre Poblaciones .....	47
Sexos .....	47

Edades .....	48
Discusión .....	52
Conclusión .....	56
Referencias .....	58
Figuras .....	64
Cuadros .....	81

## RESUMEN

SALMERÓN ZÁRATE ADRIANA. Determinación de Valores de Referencia de Analitos Selectos del Hemograma y Bioquímica de Toninas (*Tursiops truncatus*) en Áreas Naturales Delimitadas en la Riviera Maya (bajo la dirección de: MVZ. Angel García Hernández y MVZ. María Concepción López Romahn).

El objetivo del presente trabajo es establecer los valores de referencia de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) aparentemente sanas bajo el cuidado de Grupo Vía Delphi, mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya en el Estado de Quintana Roo, México; así como denotar si existen diferencias estadísticas significativas entre grupos de sexos (hembras y machos) y edades (crías, juveniles y adultos) basándose en 877 análisis de sangre de rutina de 66 animales realizados desde enero del 2006 hasta diciembre del 2009.

Se calculó media, desviación estándar, varianza, curtosis, coeficiente de asimetría y los rangos de referencia por percentiles y media  $\pm 2$  desviaciones estándar de 15 analitos del hemograma y 15 analitos de bioquímica.

Se encontraron varias diferencias significativas entre las medias de machos y hembras, pero éstas no representan relevancia clínica, sin embargo se comprobó que las crías presentan valores diferentes a los juveniles y adultos en varios analitos que deben considerarse durante la interpretación de los resultados para definir el estado de salud del animal y dar un diagnóstico y pronóstico precisos.

La información proporcionada en este estudio contribuye a conocer más acerca de la fisiología de esta especie en espacios naturales delimitados y entender la importancia de establecer valores de referencia propios del laboratorio e individuos a evaluar para disminuir errores que repercutirán en la salud de la población.

## INTRODUCCIÓN

Los mamíferos son uno de los grupos de animales más exitosos evolutivamente hablando, razón por la cual en la actualidad se encuentran ampliamente distribuidos y ocupan prácticamente la totalidad de los biomas de la Tierra. El medio acuático no ha sido una excepción y actualmente se pueden encontrar múltiples especies que se han adaptado al mismo<sup>1</sup>.

Los mamíferos marinos integran las especies de tres órdenes: Cetácea, Sirenia y Carnívora; México cuenta con 45 especies de mamíferos marinos, además de 5 especies que son de ocurrencia probable en aguas nacionales<sup>1</sup>.

La orden Cetácea se divide en 2 subórdenes: Mysticetos (cetáceos con ballenas) y Odontocetos (cetáceos con dientes), el cual a su vez se divide en 9 familias, dentro de las cuales se puede ubicar a la tonina (*Tursiops truncatus*) en la familia Delphinidae<sup>2</sup>.

La tonina, también conocida como delfín mular<sup>2</sup>, es la primera especie de cetáceo que fue mantenida en cautividad, por esta razón es la más extensamente estudiada<sup>3</sup>. Además, es el cetáceo comúnmente exhibido en acuarios, zoológicos y delfinarios; donde gracias al entrenamiento realizan espectáculos<sup>2,4</sup> y se ha obtenido información precisa sobre su comportamiento, anatomía y fisiología<sup>2</sup>.

# 1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA TONINA

## 1.1. ANATOMÍA GENERAL

La tonina es encontrada en la mayoría de los océanos templados y tropicales del mundo<sup>4</sup>. Tiene un cuerpo robusto fusiforme<sup>5</sup> de tamaño mediano, coloración gris oscuro en el dorso y costados aclarándose hacia el vientre, con una aleta dorsal falcada y con una fuerte demarcación entre el melón y el rostro<sup>4</sup>.

Como todos los mamíferos marinos, las toninas han sufrido adaptaciones que favorecen la vida acuática estricta como son: la modificación de sus extremidades para facilitar la natación, incremento de la capa grasa subcutánea para el aislamiento y mantenimiento de la temperatura corporal, desarrollo de locomoción axial y desarrollo de testículos sin escroto, entre otras<sup>2,4,6,7</sup>.

Carecen de miembros pelvianos pero en su lugar tienen una estructura cartilaginosa grande llamada aleta caudal<sup>6</sup>.

## 1.2. ADAPTACIONES ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DEL SISTEMA CIRCULATORIO

Comparado con animales terrestres, las toninas tienen menor número de eritrocitos, sin embargo, los índices eritrocitarios, hemoglobina, peso cardíaco y volumen sanguíneo es mayor, debido a la adaptación de estos animales para el buceo, facilitando la reserva de oxígeno<sup>8,9,10</sup>.

La estructura básica del corazón tiene morfología típica de los mamíferos<sup>6,8</sup>, pero las crías presentan persistencia del foramen oval y comunicación interventricular durante los primeros 6 meses de vida<sup>11</sup>.

El sistema circulatorio de los cetáceos se caracteriza por una adaptación llamada *red maravillosa*. Esta red está compuesta por vasos sanguíneos contorneados, principalmente arterias, con venas de paredes delgadas entre ellas; formado un tejido en la pared dorsal de la cavidad torácica y extremidades<sup>6,8</sup>.

La aorta sale del corazón como la aorta ascendente, forma el arco aórtico (presenta una dilatación) y continúa siguiendo la columna vertebral como la aorta torácica; después se ramifica en arterias intercostales, las cuales alimentan la red torácica, algunas de estas segmentaciones intercostales se anastomosan en la base de la aleta dorsal para formar una arteria que corre por el centro de la aleta.

La aorta continúa hacia el abdomen como la aorta abdominal hasta llegar a las vértebras caudales en donde sigue el aspecto ventral de la columna caudal. La aorta caudal se ramifica dorsal y ventralmente en arterias superficiales que pasan por el centro de los lóbulos de la aleta caudal. Las vértebras caudales tienen unidas osificaciones laterales llamadas huesos chevron o *arco hemal* [**Figura 1 (1)**] que pueden estar fusionados entre ellos, formando un canal triangular por donde pasan la aorta caudal, sus ramificaciones y venas caudales (vena del pedúnculo). Los vasos sanguíneos caudales son más grandes que los de mamíferos terrestres. No tienen válvulas en las venas, lo cual facilita la colección de muestras<sup>6</sup>.

Para mantener la temperatura del cuerpo cuentan con un espeso manto de grasa en las capas profundas de la piel que funciona como aislante, pero debido a la alta efectividad de esta capa de grasa, existe potencialmente el riesgo de un sobrecalentamiento del organismo cuando el cetáceo desarrolla actividad física intensa; esto se soluciona con la presencia de *anastomosis arteriovenosas* que

son canales vasculares que conectan una arteria y una vena proximal al lecho capilar<sup>10</sup>, éstas ascienden a la superficie de la piel a través de la capa de grasa. Cuando pasa gran cantidad de sangre por estos vasos, la piel se calienta a causa del calor transportado por el torrente sanguíneo, este calor se disipa en seguida en el agua circundante<sup>2,7</sup>.

No todo el cuerpo está cubierto por la capa de grasa, las aletas carecen de este aislamiento por lo que el mecanismo para mantener el calor difiere del resto del cuerpo; una modificación de los vasos sanguíneos minimiza esta pérdida mediante un mecanismo llamado *intercambio de calor por contracorriente*, en donde las arterias principales que riegan las extremidades están completamente rodeadas por un plexo de venas llamada *red venosa periarterial* [**Figura 1 (2,3,4)**]; si aumenta el flujo de sangre a las extremidades, el diámetro de las arterias aumenta para dar cabida al exceso de flujo, esto a su vez provoca una presión en el plexo venoso circundante limitando el paso de la sangre, por lo tanto evitando el enfriamiento de la sangre arterial y obligando a la sangre a volver al cuerpo a través de venas superficiales, por lo que el calor que transportan se disipa en el agua<sup>2,6-8</sup>. Este mecanismo tiene dos objetivos principales: regular la pérdida de calor para mantener la temperatura corporal y permitir el flujo de sangre enfriada hacia órganos específicos (testículos y epidídimo, ovario y útero)<sup>6,7</sup> (**Figura 2**).

Por esta razón la sangre obtenida de las venas centrales de la aleta caudal, vena del pedúnculo, vena central de la aleta dorsal y venas de las aletas pectorales: es sangre arterial y venosa mezclada<sup>9</sup>.

El suministro de sangre al cerebro no tiene lugar por la vía normal de las arterias carótidas, sino a partir de la red maravillosa espinal<sup>2,6,8</sup>.

La sangre que va al cerebro entra primero a la red torácica para continuar a la red espinal la cual rodea la médula espinal y entra por el foramen magno<sup>6</sup>. Existen 2 hipótesis para esta adaptación en los cetáceos:

1. La elasticidad de la red permite un flujo sanguíneo con una presión controlada<sup>6</sup>, es decir, el flujo sanguíneo cerebral no es pulsátil, no hay picos sistólicos ni diastólicos. La importancia de este patrón de flujo aún se desconoce<sup>8</sup>.
2. La posición de la red torácica, dorsal a los pulmones, puede proveer control térmico de la sangre que entra a la red espinal y a su vez al sistema nervioso central, ya que se ha demostrado que la temperatura de un hemisferio cerebral disminuye durante el sueño<sup>6</sup>.

De la misma manera, la sangre sale del cerebro por la vena extradural por lo que las venas yugulares están poco desarrolladas<sup>8</sup>.

## 2. PATOLOGÍA CLÍNICA

La Patología Clínica es una rama de la Medicina que envuelve la determinación, estudio y uso de pruebas de laboratorio<sup>12</sup> dirigida a la verificación del estado de salud y solución de casos clínicos<sup>13</sup>, la cual debe basarse en una combinación razonable de anamnesis, examen físico y análisis de laboratorio<sup>9,13-16</sup>.

La información que se obtiene a partir de los análisis de laboratorio permite instaurar el diagnóstico y el pronóstico del caso; éstos tienen fuerte impacto en la toma de decisiones terapéuticas<sup>13</sup>, pues demuestran en forma completa y precisa los trastornos funcionales que produce la enfermedad<sup>14</sup>, por lo que es de vital importancia realizar la interpretación correcta de los resultados basándose en los valores de referencia de la especie estudiada<sup>13,14</sup>.

La interpretación de los resultados depende, además del examen físico e historia clínica del caso, de un entendimiento del sistema hematopoyético, la respuesta inmunológica y la historia natural de la enfermedad<sup>17</sup>.

Los rangos de los valores de referencia están influenciados por diversos factores del animal mismo, del entorno en que habita, así como la metodología con que se obtienen y procesan las muestras<sup>5,9,12,13,15-30</sup>; por lo que utilizar valores de referencia de otros laboratorios, de libros o de textos en general puede tener como efecto graves errores en la interpretación de los resultados<sup>13</sup>; por esta razón se requiere establecer valores de referencia propios del laboratorio que realiza las pruebas<sup>17</sup> y de la población de animales que se tratan, tomando en cuenta los factores que la caracterizan (ubicación geográfica, clima, manejo, alimentación, entre otras)<sup>5,9,15</sup>.

Idealmente, los valores de referencia deben establecerse usando una población de animales sanos con una composición similar a la población de animales enfermos a evaluar<sup>12,17</sup>.

## **2.1. FACTORES QUE INFLUYEN LOS VALORES DE ANÁLISIS DE LABORATORIO**

Como se mencionó anteriormente, son muchos los factores involucrados en los valores de los analitos del hemograma y bioquímica, pero en este trabajo se profundizan los cambios que pueden ocasionar el sexo, edad, estrés y respuesta inflamatoria en los valores de referencia de las toninas, ya que son las variables más frecuentes en la población estudiada, así como las condiciones del manejo de las muestras.

### **2.1.1. PROPIOS DEL ANIMAL**

Se han realizado varios estudios en donde se encontraron diferencias significativas de valores del hemograma y perfil bioquímico sanguíneo de toninas en cautiverio y vida libre influenciadas por edad<sup>9,10,15,19</sup>, sexo<sup>15,19</sup>, estado fisiológico (gestación)<sup>15</sup>, estacionalidad<sup>18</sup>, localización geográfica<sup>18</sup>, tiempo posparto<sup>9</sup>, estado emocional (miedo, excitación)<sup>28</sup> y actividad física<sup>5,7</sup>; así como diferencias causadas por estrés de transporte y manejo de los animales para la colección de la sangre<sup>9,20,21</sup> y por efecto de medicamentos como corticosteroides<sup>9,22</sup>.

### **2.1.1.1. EDAD**

#### **Crías (nacimiento a 2 años)**

Los animales al momento del nacimiento tienen eritrocitos más grandes, mayor cuenta de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina, pero estos valores disminuyen velozmente al momento de la lactancia debido a la rápida expansión del volumen del plasma debido al consumo de calostro, aumento en la destrucción de eritrocitos fetales y una deficiencia de hierro para la síntesis de hemoglobina, por su baja concentración en leche<sup>9,10,23</sup>.

La cuenta de leucocitos está elevada, específicamente por neutrófilos debido a la liberación de corticosteroides durante el nacimiento<sup>23</sup>, esto a la vez causa linfopenia, por lo que la relación neutrófilo-linfocito es mayor<sup>9</sup>.

En animales neonatos la velocidad de sedimentación globular es nula o ligera debido a la presencia de reticulocitos<sup>23</sup>.

#### **Juveniles en Crecimiento (2 años a 7 años)**

Los animales jóvenes presentan linfocitosis, pero conforme avanza la edad, los linfocitos disminuyen debido al decremento de la actividad del timo<sup>23</sup>, así mismo presentan menores valores relativos de neutrófilos<sup>15</sup>, tienen menor cantidad de globulinas, la fosfatasa alcalina<sup>9,10</sup> está elevada y también tienden a tener menor cantidad de urea que adultos<sup>9</sup>.

#### **Adultos (mayores de 7 años)**

Conforme avanza la edad, los animales tienden a tener cuentas de leucocitos elevados y la actividad de la fosfatasa alcalina está disminuida<sup>9</sup>.

### 2.1.1.2. SEXO

#### Hembras

En un estudio realizado por Goldstein, *et al* (2006) se encontró que las toninas hembras de vida libre en Florida, E.U.A. presentaron resultados mayores de hematocrito, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos e hierro que machos asociándolo a que las hembras pueden presentar mayor estrés durante la captura que los machos, sobre todo cuando tienen cría.

### 2.1.2. ESTRÉS

El estrés puede definirse como la respuesta no específica del cuerpo a cualquier situación que requiere una adaptación física, mental o emocional<sup>20,30</sup>.

La respuesta al estrés en las toninas (por ejemplo en manejos médicos que requieran restringir al animal), al igual que los mamíferos terrestres, está determinada por cambios fisiológicos, endocrinos, inmunológicos y nerviosos<sup>30</sup>.

La estimulación neurológica provoca respuestas fisiológicas y endocrinas que junto a la respuesta inmunológica y los mediadores de la inflamación activan la liberación de hormonas, las cuales también activan otros procesos fisiológicos y acentúan la respuesta inmune. La sobrevivencia del individuo depende de esta regulación de la retroalimentación de todos estos sistemas<sup>30</sup>.

Como resultado de la liberación de glucocorticoides durante la respuesta a estrés agudo, las toninas pueden presentar el siguiente leucograma: leucocitosis por neutrofilia, eosinopenia y linfopenia<sup>20,30,31</sup>, así como disminución del hematocrito<sup>31</sup>, hiperlipemia e hiperglucemia por aumento de gluconeogénesis hepática y catabolismo lipídico y proteico. El aumento de la actividad muscular resulta en incremento de la actividad de creatina cinasa y aminotransferasas<sup>30</sup>.

En estrés crónico, la secreción de glucocorticoides es repetitiva, lo que provoca respuesta deficiente de los linfocitos a patógenos indicando severo daño en el sistema inmunológico<sup>30</sup>, lo que resulta en debilitamiento, pérdida de la condición corporal y anemia<sup>31</sup>.

### **2.1.3. RESPUESTA INFLAMATORIA**

La inflamación provoca procesos inflamatorios sistémicos conocidos como respuesta de fase aguda en donde se producen mediadores inflamatorios y se reclutan mayor número de células inflamatorias en el sitio de la lesión o infección. Las células más importantes en esta fase temprana son los fagocitos (neutrófilos y macrófagos del tejido), éstos producen citocinas para iniciar la respuesta inflamatoria y el reclutamiento de más leucocitos por medio de quimiotaxis y el incremento de células en el endotelio vascular. Estos factores en conjunción con un incremento del flujo sanguíneo y aumento de la permeabilidad vascular permiten la acumulación de leucocitos, inmunoglobulinas y otras proteínas en el tejido afectado<sup>29</sup>.

Debido a la presencia de la gruesa capa de grasa subcutánea de las toninas, es difícil reconocer los signos cardinales de inflamación localizada, por lo que se utilizan métodos alternativos para dar una idea de la severidad de la inflamación como la velocidad de sedimentación globular que es un método de medición indirecta de fibrinógeno así como la determinación de la concentración sérica de hierro, albúmina y fosfatasa alcalina, número de leucocitos, conteo diferencial de leucocitos, hematocrito y hemoglobina que coadyuva a indicar la presencia de inflamación<sup>10,29,31</sup>.

En animales con inflamación crónica, el número de reticulocitos generalmente disminuye, debido a la baja regeneración de eritrocitos<sup>31</sup>.

#### **2.1.4. OBTENCIÓN, TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS**

La metodología con que se colecta, transporta, almacena y analiza una muestra sanguínea es la clave para obtener resultados precisos<sup>9,12-14,16,24,26</sup>.

Durante la obtención de la muestra se puede causar hemólisis por un vacío violento al extraer la muestra con agujas de calibres muy delgados, impacto del chorro de sangre en el fondo del recipiente, material sucio o contaminado, agitación brusca de la muestra al incorporar con el anticoagulante<sup>13</sup>.

El transporte y almacenamiento se deben efectuar a una temperatura de 4°C en el menor tiempo posible (máximo 48 horas), con manejo cuidadoso de la muestra colectada para prevenir hemólisis ya que ésta se puede producir por manipulación brusca, choques térmicos y temperaturas extremosas<sup>9,13,16,26,27</sup>. La hemólisis tiene un efecto en la lectura de la espectrocolorimetría y altera el pH de las reacciones enzimáticas lo que resultaría en severos errores durante su procesamiento e interpretación<sup>9,12,21,24,27</sup>.

En el caso del perfil bioquímico, el tiempo que transcurre desde la formación del coágulo (en toninas el coágulo se retrae aproximadamente a los 60 - 90 minutos de haber obtenido la muestra)<sup>18</sup> hasta la extracción del suero debe ser el menor posible (menos de una hora), ya que algunos analitos como la glucosa (10% por hora) van decreciendo o pierden su estabilidad proporcionalmente al tiempo de exposición del suero con los eritrocitos<sup>9,12,21,26</sup>.

Se deben tomar en cuenta las características del laboratorio clínico que efectúa las pruebas, como los métodos y técnicas de análisis, instrumentos y reactivos<sup>9,13</sup>.

## **2.2. HEMOGRAMA**

Es importante realizar una evaluación macroscópica previa al conteo celular para así determinar si la muestra es apta para el análisis, ya que si presenta alguna anomalía, los resultados no reflejarán el estado de salud del animal<sup>12</sup>.

En esta primera evaluación se identifica si la muestra presenta coágulos, aglutinación eritrocitaria (inmunoglobulinas unidas a la superficie de los eritrocitos) observándose como gránulos rojos y determinar la presencia de metahemoglobinemia de acuerdo al color de la sangre (sangre oscurecida)<sup>12</sup>.

### **2.2.1. FROTIS SANGUÍNEO**

La evaluación del frotis sanguíneo es esencial como control de calidad de los conteos celulares, pudiéndose verificar que los resultados concuerden<sup>11,15,16</sup>; además es necesario examinar la morfología de las células para detectar anomalías, policromasia, formas inmaduras, neutrófilos tóxicos y linfocitos reactivos<sup>12,13,17</sup>.

Los frotis sanguíneos deben prepararse lo antes posible, de preferencia dentro de las primeras 2 horas de haber colectado la muestra para evitar artefactos que pudieran distorsionar la morfología celular<sup>12</sup>.

Los frotis deben examinarse inicialmente con el objetivo a 4 aumentos y un ocular de 10 aumentos (10 X) para lograr un aumento final de 40X para identificar la presencia de aglutinación de eritrocitos, agregación leucocitaria y plaquetaria, algunos protozoarios o microfilarias, seguir a 100X aumentos para evaluar células anormales, forma, tamaño y características de tinción de eritrocitos y leucocitos y finalmente signos de toxicidad y cuerpos de inclusión a 1000X<sup>12,13,16,17</sup>.

Es importante revisar todo el frotis sanguíneo ya que los agregados leucocitarios y plaquetarios tienden a concentrarse al final del frotis<sup>12,16</sup>.

El frotis se debe fijar y teñir con una tinción de tipo Romanowsky la cual está compuesta por un colorante rojo (eosina) que tiene afinidad por estructuras alcalinas y un colorante azul (azul de metileno) que tiene afinidad por estructuras ácidas<sup>12,16</sup>.

### **2.2.2. HEMATOCRITO**

El hematocrito es el volumen que ocupan los eritrocitos en la sangre, provee una evaluación preliminar en casos en donde se sospecha de anemia, así como para determinar el nivel de hidratación de la tonina, pudiendo denotar hemodilución o hemoconcentración<sup>13,16,17</sup>. En algunos casos de inflamación aguda, el hematocrito puede estar disminuido hasta en un 10% probablemente debido a la dinámica de fluidos en respuesta a mediadores inflamatorios<sup>10</sup>.

En las toninas, el valor del hematocrito es mayor que en los mamíferos terrestres, debido a que el tamaño de eritrocitos es mayor para facilitar la reserva de oxígeno durante el buceo<sup>8,9,10</sup>.

La determinación del hematocrito por el método del microhematocrito es útil para detectar la presencia de ictericia, lipemia y hemólisis<sup>9</sup>. Con esta técnica la muestra sanguínea se separa en 3 fracciones basándose en su densidad, la primera y más abundante es el paquete eritrocitario, seguido por una fracción blanca compuesta por leucocitos y plaquetas y finalmente el plasma<sup>12</sup>. El hematocrito puede ser medido al determinar la porción que ocupa la fracción de eritrocitos en el tubo<sup>12,13</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 0.38 - 0.44 L/L.<sup>9</sup>

### 2.2.3. NÚMERO DE ERITROCITOS

Los eritrocitos son discos bicóncavos anucleados<sup>23</sup> altamente deformables, lo que permite que viajen a través de capilares pequeños; en algunas patologías la forma de los eritrocitos se modifica aumentando la rigidez, lo que acrecienta la susceptibilidad a daño mecánico y disminuye la efectividad en el transporte de oxígeno<sup>28</sup>.

Los eritrocitos circulan en el torrente sanguíneo para proveer a los tejidos de oxígeno y remover el bióxido de carbono; cuando están maduros, son retirados de la circulación por el bazo y sus metabolitos son reciclados por el hígado<sup>17</sup>. Los eritrocitos funcionan como amortiguador en los cambios ácido-base de la sangre<sup>28</sup>.

La oxigenación tisular es el principal regulador para la producción de eritrocitos por lo que la hipoxia estimula a la médula ósea para aumentar la producción de eritrocitos<sup>28</sup>.

Comparados con mamíferos terrestres, las toninas tienen menor número de eritrocitos<sup>9,10</sup> y no presentan eritrocitosis por contracción esplénica, por lo que la eritrocitosis sólo puede asociarse a hemoconcentración<sup>9</sup>.

Al igual que el hematocrito, el número de eritrocitos provee información sobre el estado de hidratación del animal así como evaluar casos donde se sospecha de anemia<sup>13,16,17</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio  $3.0 - 3.7 \cdot 10^{12}/L$ .<sup>9</sup>

#### 2.2.4. HEMOGLOBINA

La hemoglobina es un pigmento rojo contenido en los eritrocitos, es la responsable de transferir el oxígeno de la sangre a los tejidos<sup>9</sup> y está conformado por 4 unidades hem (contienen hierro) y 4 cadenas de globina (cadena de aminoácidos)<sup>16,28</sup>.

La concentración de hemoglobina es la indicación más directa de la capacidad para transportar oxígeno<sup>16</sup>; en toninas, la concentración es mayor comparado con mamíferos terrestres<sup>9,10</sup>.

La determinación de la hemoglobina es indispensable para el cálculo de los índices eritrocitarios, que junto con el hematocrito y el número de eritrocitos, indican la respuesta eritropoyética de la médula ósea a la anemia (regenerativa o no regenerativa)<sup>9,13</sup>.

La hemoglobina aumentada puede indicar hemólisis (*in vivo* o *in vitro*), ictericia, y lipemia; en contraste, la disminución de la hemoglobina puede asociarse a deficiencia de hierro<sup>13</sup> y en toninas, como respuesta a mediadores de inflamación<sup>10</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 135 - 155 g/L.<sup>9</sup>

#### 2.2.5. VOLUMEN GLOBULAR MEDIO

Es un índice eritrocitario calculado a partir del hematocrito dividido entre el número de eritrocitos, indica el tamaño promedio de los eritrocitos en femtolitros (fL)<sup>13</sup>. Su importancia clínica está basada en la clasificación de anemias (de acuerdo a la respuesta de la médula ósea); se tienen tres posibilidades: eritrocitos microcíticos, eritrocitos normocíticos y eritrocitos macrocíticos<sup>9,13</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 115 - 135 fL.<sup>9</sup>

### **2.2.6. CONCENTRACIÓN GLOBULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA**

Es un índice eritrocitario calculado a partir de la concentración de hemoglobina dividido entre el hematocrito, indica la cantidad promedio de hemoglobina de los eritrocitos en gramos por litro (g/L)<sup>13</sup>. Su importancia clínica está basada en la clasificación de anemias (de acuerdo a la respuesta de la médula ósea); se tienen dos posibilidades: anemia hipocrómica o normocrómica<sup>9,13</sup>. La hiperocrómica puede indicar dos situaciones: sobreestimación de la hemoglobina por artefactos como lipemia, cuerpos de Heinz, leucemias e ictericia principalmente; o por disminución del hematocrito por hemólisis que puede ser *in vitro* o *in vivo*<sup>13</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 340 - 360 g/L.<sup>9</sup>

### **2.2.7. VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR**

La velocidad de sedimentación globular (VSG) es una prueba inespecífica de utilidad para monitorear la presencia e intensidad de inflamación, en donde la magnitud de la inflamación es directamente proporcional al grado en que los eritrocitos sedimentan<sup>9</sup>.

Está influenciado por varios factores como el número de células inmaduras, formación de rouleaux, presencia de células anormales, la concentración y composición de proteínas plasmáticas<sup>16,17</sup>.

La elevación de su valor se asocia al incremento de gama globulinas y fibrinógeno por lo que la medición de esta proteína ha sustituido al uso de la VSG en humanos y animales domésticos<sup>9</sup>.

En toninas el valor de la VSG está muy elevado durante la respuesta inflamatoria, pero con la resolución de la inflamación regresa a estar dentro de los valores de referencia por lo que se continúa usando como un indicador para el pronóstico del paciente<sup>9</sup>.

Para evaluar correctamente la VSG es importante considerar el hematocrito, ya que generalmente un hematocrito elevado se asocia a VSG disminuido debido a factores mecánicos<sup>17</sup>, por lo que la VSG es inversamente proporcional a la variación del hematocrito<sup>23</sup>.

En ocasiones se puede apreciar VSG bifásico por la presencia de reticulocitos, estos sedimentan con menor velocidad que los eritrocitos maduros<sup>23</sup>. En estados de deshidratación se disminuye debido al aumento de la viscosidad del plasma<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 4 - 17 mm/h.<sup>9</sup>

### **2.2.8. NÚMERO DE LEUCOCITOS**

Los leucocitos son un componente importante de la respuesta inmunológica<sup>17</sup>.

El número de leucocitos junto con la proporción relativa de los tipos celular son indispensables para identificar enfermedades clínicas en un animal<sup>17</sup>.

Un número elevado (leucocitosis) puede indicar un estado de redistribución celular por corticosteroides o por catecolaminas, o bien, por un proceso inflamatorio activo

como en enfermedades bacterianas, también daño tisular severo así como producción celular anormal. En enfermedades virales el número disminuye (leucopenia), también en producción celular deficiente como en leucemia y neoplasias<sup>17</sup>.

En toninas, la determinación del número de leucocitos es indispensable debido a que son animales que tienden a enmascarar signos clínicos de enfermedad teniendo en consideración que de acuerdo a lo publicado por Reidarson (2003) y Dunn, *et al* (2001) la principal causa de muerte de toninas en cautiverio es neumonía bacteriana<sup>10,32</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio  $5.0 - 9.0 \times 10^9/L$ .<sup>9</sup>

### **2.2.9. CONTEO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS**

Existen cinco variedades leucocitarias: granulocitos o polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y no granulocitos o mononucleares (linfocitos y monocitos)<sup>13</sup>.

Un aumento o disminución en los valores absolutos de alguno de ellos pueden orientar hacia el diagnóstico<sup>32</sup>.

La concentración de neutrófilos, eosinófilos y monocitos es resultado de cambios en la tasa de liberación de estas células desde la médula ósea hacia la sangre, la distribución de estas células entre la circulación y el endotelio vascular y de la tasa de emigración de células de la sangre a los tejidos. La concentración de linfocitos en la sangre es fundamentalmente un reflejo de los cambios de la cinética de la circulación linfática y la redistribución celular<sup>16,28</sup>.

## Morfología Celular

- **Granulocitos:** son importantes en la respuesta inflamatoria aguda ya que sus gránulos representan lisosomas que contienen enzimas hidrolíticas y otros componentes antibacteriales para matar bacterias (neutrófilos) y fagocitar residuos celulares (estas células forman la pus junto con proteínas) <sup>17,28</sup>; representan la inmunidad innata o no específica<sup>28</sup>.
  - **Neutrófilos:** son el tipo leucocitario más común en las toninas<sup>28</sup>, contienen varios gránulos pero no se tiñen con tinciones de tipo Romanowsky, el núcleo tiene 3 o más lóbulos, pero en infecciones se pueden observar núcleos en banda (desviación a la izquierda); en toninas se ha redefinido el criterio para los neutrófilos en banda, considerándose como banda cualquier neutrófilo que contenga cromatina abarcando los lóbulos con el objetivo de detectar individuos en estadios tempranos de inflamación<sup>31</sup>. Su función primaria es la fagocitosis y la eliminación de diferentes organismos, son la primera línea de defensa<sup>13,17,29</sup>.
  - **Eosinófilos:** son el segundo tipo de granulocito más común, contienen gránulos eosinofílicos (rosas en tinción tipo Romanowsky) los que contienen proteínas y enzimas<sup>28</sup>, su número incrementa en reacciones alérgicas (hipersensibilidad inmediata o retrasada<sup>16</sup>) ya que tienen quimiotaxis por la histamina secretada por las células dañadas, también puede indicar infección parasitaria<sup>17,27</sup>. Las toninas tienen mayor número de eosinófilos que la mayoría de los mamíferos<sup>29</sup>.
  - **Basófilos:** en toninas son extremadamente raros, en un estudio de 180 toninas ningún basófilo fue observado<sup>29</sup>.

- **No granulocitos:**

- **Linfocitos:** contienen pocos gránulos, tienen núcleo redondo y son derivados de la médula ósea, bazo y linfonodos; estas células se elevan en algunas infecciones virales agudas<sup>17</sup>, su función es la producción de anticuerpos<sup>16,29</sup>.
- **Monocitos:** son los leucocitos más grandes en la sangre, pueden contener algunos gránulos o ninguno, tienen núcleo pleomorfo<sup>23</sup>, habitualmente redondo aunque en monocitos maduros el núcleo puede estar curvo y generalmente son más grandes que los linfocitos, estas células son comunes en enfermedades crónicas; en la respuesta inflamatoria estas células migran hacia los tejidos en donde son conocidos como macrófagos en cualquier desorden que requiera mayor actividad fagocitaria<sup>17,29</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio:

Neutrófilos	3.23 - 4.85 $10^9/L$ . <sup>9</sup>
Linfocitos	0.84 - 1.66 $10^9/L$ . <sup>9</sup>
Monocitos	0.14 - 0.35 $10^9/L$ . <sup>9</sup>
Eosinófilos	0.53 - 1.02 $10^9/L$ . <sup>9</sup>

### 2.3. BIOQUÍMICA SÉRICA

La bioquímica es usada para confirmar diagnósticos o para establecer pronósticos sobre un caso, así como evaluar el grado de daño de un órgano. Sin embargo, si los resultados no apoyan la evaluación de un caso, sería necesario repetir las pruebas o intentar con pruebas alternativas, por que en ocasiones un solo resultado puede ser engañoso<sup>17</sup>.

En toninas, la determinación de concentraciones séricas de algunos analitos (proteínas totales, albúmina, fosfatasa alcalina e hierro) es de gran ayuda para indicar la presencia de cualquier proceso inflamatorio<sup>31</sup>.

## **MÉTODO DE MEDICIÓN**

El colorímetro y espectrofotómetro son instrumentos que producen y miden la luz (a diferentes longitudes de onda) que pasa o que es absorbida por una solución coloreada; los espectrofotómetros usan rejillas de difracción para producir luz monocromática que pasa a través de la muestra, mientras que los colorímetros usan filtros y la luz que pasa a través de la muestra es policromática pero dentro de un rango estrecho. En la mayoría de los casos la intensidad del color es directamente proporcional con la cantidad de sustancia a determinarse dentro de la solución. Las mediciones se realizan por la cantidad de luz absorbida por la muestra o por la cantidad de luz que pasa a través de la muestra<sup>17</sup>.

El sistema de química seca semiautomático que se utiliza en este trabajo realiza las mediciones por colorimetría en donde el método consiste en que una gota del suero del paciente se deposita en la lámina para dispersarse en las laminillas internas que contienen el reactivo con colorante y se mezclen para que se lleve a cabo una reacción<sup>33</sup>. Existen dos variaciones para la lectura de la reacción:

**Colorimetría de Punto Final:** la lectura de la laminilla se realiza al finalizar la reacción por medio de refracción por espectrofotometría<sup>33</sup>.

**Colorimetría Cinética:** para obtener el resultado final, se realiza una lectura antes de que inicie la reacción y la segunda lectura de la laminilla al finalizar la reacción por medio de refracción por espectrofotometría, así se obtiene la diferencia de densidad del colorante, que es proporcional a la acción y concentración enzimática<sup>33</sup>.

### **2.3.1. PROTEÍNAS PLASMÁTICAS**

La concentración de proteínas está en función del equilibrio hormonal, nutricional, balance hídrico y de otros factores que afectan el estado de salud, así como el estado de renovación de las distintas proteínas<sup>13</sup>.

Las proteínas totales se miden para evaluar el nivel de hidratación por lo que la hiperproteinemia puede indicar hemoconcentración, mientras que la hipoproteinemia puede indicar hemodilución, pérdidas, insuficiencia hepática o deficiencias nutricionales<sup>9,17</sup>. Se engloban principalmente en dos grupos: albúmina y globulinas (en ésta se incluyen fibrinógeno, complemento y anticuerpos)<sup>13</sup>.

La información obtenida a partir de la interpretación simultánea de la concentración de proteínas plasmáticas y hematocrito puede dirigir el diagnóstico, ya que la combinación de valores altos, bajos o en rango puede indicar problemas clínicos específicos<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 60 - 78 g/L.<sup>9</sup>

#### **2.3.1.1. ALBÚMINA**

La producción de albúmina es únicamente dependiente de la función de los hepatocitos y nutrición adecuada, su principal función es prevenir pérdida de plasma de capilares manteniendo la presión coloidosmótica por lo que una disminución resultaría en edema y efusión pleural y/o peritoneal<sup>9,12,17</sup>.

La concentración de albúmina y la relación albúmina: globulinas son mayores en toninas que en mamíferos terrestres<sup>9</sup>.

La hiperglobulinemia puede presentarse en casos de deshidratación y choque. La hipoalbuminemia puede indicar desnutrición, nefropatías, gastroenteropatías

(especialmente parasitismo), enfermedad hepática avanzada, deficiente producción de albúmina secundaria a hiperglobulinemia, hemorragia y en lesiones cutáneas extensas con compromiso epidermal (como en quemaduras severas)<sup>9</sup>; en toninas la albúmina puede disminuir por efecto de mediadores inflamatorios en su síntesis en el hígado<sup>31</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 43 - 53 g/L.<sup>9</sup>

### 2.3.1.2. GLOBULINAS

La concentración de las globulinas se determina restando la concentración de albúmina del valor de las proteínas plasmáticas totales<sup>9</sup>.

Las globulinas se determinan por electroforesis:

- **$\alpha$ -globulinas:** son proteínas de fase aguda de la inflamación (haptoglobina, lipoproteínas y antitripsina) se elevan en inflamación aguda, hepatitis activa severa, enfermedad glomerular aguda y síndrome nefrótico<sup>9</sup>.
- **$\beta$ -globulinas:** (complemento, hemopexina, transferrina y fibrinógeno) se elevan en hepatitis aguda, dermatopatías supurativas y síndrome nefrótico<sup>9</sup>.
- **$\gamma$ -globulinas:**
  - ***Policlonales:*** aumentan por enfermedades inflamatorias crónicas (generalmente asociadas en conjunción con disminución de albúmina por decremento en su síntesis), hepatitis crónica, abscesos hepáticos y pulmonares<sup>9</sup>.
  - ***Monoclonales:*** aumentan en neoplasias, proliferaciones celulares no neoplásicas. Disminuyen en suero fetal, neonatos que no han consumido calostro e inmunodeficiencia adquirida por enfermedades crónicas<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 13 - 25 g/L.<sup>9</sup>

### 2.3.2. HIERRO

La mayor parte del hierro del cuerpo está ligado a hemoglobina, mioglobina y proteínas citocromos, el resto puede estar ligado a otras globulinas (transferrina, lactoferrina y ferritina) o puede estar en una forma libre<sup>9,16</sup>.

En la respuesta inflamatoria aguda el hierro libre es secuestrado por proteínas para disminuir la disponibilidad del hierro para los patógenos y así reducir la probabilidad de infección, en toninas sucede en traumatismos, parasitismo, enfermedades infecciosas y trastornos metabólicos en donde la concentración del hierro sérico disminuye<sup>9</sup>. La concentración puede aumentar en casos de infecciones hepáticas bacterianas y hepatopatías (como lipidosis) en donde el hígado pierde la capacidad de secuestrar el hierro, liberándolo al suero<sup>31</sup>.

La determinación de hierro sérico es de gran ayuda para evaluar la condición y pronóstico de las toninas<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 21.49 – 60.89  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>9</sup>

### 2.3.3. ENZIMAS

El análisis de las enzimas ayuda al diagnóstico de enfermedades, para monitorear la evolución de una enfermedad así como la respuesta al tratamiento<sup>12</sup>.

Las enzimas se miden en unidades internacionales. Una unidad internacional (UI) se define como la cantidad de enzima que cataliza un micromol de sustrato o coenzima por minuto<sup>12</sup>.

Las enzimas son catalizadores biológicos, específicos para la regulación de la química de las células y los organismos vivos<sup>13</sup>. Se localizan en las células, algunas son específicas de órganos y otras se encuentran en varios tejidos<sup>12</sup> por lo que la interpretación de pruebas enzimáticas debe estar basada en la historia clínica y el examen físico<sup>17</sup>.

Una alteración de la integridad celular o la estimulación por neosíntesis de proteínas acelera la salida de enzimas a la circulación<sup>12</sup>.

La magnitud del incremento de las enzimas en la circulación depende de varios factores como son la actividad de la enzima en los tejidos, la severidad y el tipo de enfermedad, el ritmo en que la enzima es removida de la circulación y la localización de la enzima en la célula<sup>12</sup>.

Las enzimas que indican daño hepatocelular son alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y deshidrogenasa láctica mientras que las enzimas que indican retención biliar son fosfatasa alcalina y gama glutamiltransferasa<sup>9</sup>.

### **2.3.3.1. ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT)**

ALT es hepatoespecífica en las toninas<sup>9</sup>, su actividad es realizada en el citoplasma de los hepatocitos, por lo que concentración en sangre aumenta cuando ocurre una alteración en la permeabilidad de la membrana celular causada por daño (necrosis de hepatocitos), actividad regenerativa o de reparación que pueden ser causadas por infecciones, parasitismo, neoplasia y traumatismos hepáticos así como en desórdenes metabólicos<sup>12</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 28 - 60 U/L.<sup>9</sup>

### **2.3.3.2. ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST)**

AST se encuentra en varios tejidos principalmente en hepatocitos y músculo estriado (esquelético y cardíaco), por lo que la determinación de la concentración de AST en sangre se usa para detectar daño hepático y muscular<sup>9,12</sup>.

En toninas la elevación de la concentración puede ser causada por enfermedades hepáticas (necrosis, neoplasias y parasitismo), daño musculoesquelético y cardiopatías<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 190 - 300 U/L.<sup>9</sup>

### **2.3.3.3. DESHIDROGENASA LÁCTICA (LDH)**

LDH es una enzima con actividad en varios tejidos, tiene 5 isoenzimas que representan la actividad de un tejido específico, se pueden separar por electroforesis, se localizan en hígado, páncreas, riñón, intestinos, corazón, cerebro, músculo esquelético y eritrocitos. Un daño en cualquiera de estos tejidos como necrosis muscular, inyecciones intramusculares, enfermedades hepáticas, miocárdicas e intestinales implican un aumento en la cantidad total de LDH en sangre<sup>9,12</sup>. Toninas con infecciones pulmonares pueden tener elevada la concentración de LDH<sup>9</sup>.

La concentración de LDH es significativamente mayor en cetáceos que en mamíferos terrestres<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 350 - 500 U/L.<sup>9</sup>

#### 2.3.3.4. FOSFATASA ALCALINA (FA)

La actividad de la FA se lleva a cabo principalmente en membranas celulares de hígado, túbulos renales, intestinos, y huesos (osteoblastos)<sup>12,17</sup>. Existen 2 isoenzimas que pueden ser separadas por electroforesis, la FA hepatobiliar y FA ósea<sup>9,11,16</sup>.

En toninas se puede encontrar incremento de FA en crías en crecimiento, enfermedades óseas y enfermedades hepatobiliares en donde el incremento se debe a la retención de constituyentes biliares y a la fuga de enzimas causada por la alteración en la permeabilidad de la membrana del hepatocito<sup>12</sup> aunque no siempre se asocia una elevación de FA a una enfermedad obstructiva hepática<sup>9</sup>, ya que la concentración de la FA no se afecta tan intensamente como sucede con las concentraciones de ALT, AST, GGT y LDH en enfermedades hepáticas<sup>31</sup>.

También se ha encontrado elevación en una tonina con cálculos renales sin evidencia clínica de enfermedad hepática<sup>9</sup>.

Es un indicador para dar un pronóstico, en el caso de enfermedades críticas en donde la concentración disminuye rápidamente, pero, si después del tratamiento el nivel empieza a incrementarse se puede tener un buen pronóstico, en contraste, si el nivel se mantiene bajo éste es reservado<sup>9</sup>.

FA también tiene funciones en la desintoxicación de endotoxinas, en donde se consume gran cantidad de FA del suero pero cuando la endotoxemia se resuelve, la concentración regresa a la normalidad. También está asociada al nivel de nutrición, en donde se eleva después de comidas ricas en lípidos por lo que en estados de desnutrición e inanición la concentración se disminuye dramáticamente<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 300 - 1300 U/L.<sup>9</sup>

### **2.3.3.5. GAMA GLUTAMILTRANSFERASA (GGT)**

GGT se localiza en las membranas celulares de varios órganos incluyendo hígado, riñones y páncreas. En el hígado está asociado con células epiteliales del sistema biliar, también en células epiteliales de túbulos renales por lo que daño tubular agudo resulta en incremento de actividad GGT en orina pero no en suero. En un hígado sano la actividad de la GGT es mínima, pero cuando se presenta una discapacidad del flujo biliar, se eleva marcadamente en suero<sup>9,12,17</sup>. En toninas se ha visto incremento significativo en cirrosis hepática<sup>9</sup>.

La GGT también puede ser de gran ayuda como un indicador de la transferencia pasiva de inmunoglobulinas en crías neonatales por que el calostro y la leche presenta gran actividad de GGT<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 30 - 50 U/L.<sup>9</sup>

### **2.3.4. GLUCOSA**

Es la principal fuente de energía de los tejidos y su concentración en sangre está controlada por la insulina, glucagón, adrenalina y cortisol<sup>13</sup>. El hígado regula los niveles de glucosa en sangre por glucogénesis y glucogenólisis, la formación y metabolismo de glucógeno y gluconeogénesis, que es la conversión de aminoácidos y glicerol en glucosa<sup>17,28</sup>.

La concentración sérica de glucosa es mayor en toninas que en otros mamíferos debido a que tienen mayor demanda energética en los músculos y el sistema nervioso central durante el buceo<sup>9</sup>.

La hiperglicemia puede presentarse en casos de diabetes mellitus, obesidad, hipertiroidismo, hiperadrenocorticismo; por otro lado, la hipoglucemia puede ser causada por neoplasias, hiperinsulinismo, desnutrición, cirrosis hepática, necrosis hepática fulminante, entre otras<sup>9</sup>.

Existe un leve incremento de glucosa en sangre después de comer<sup>9,17</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 4.99 – 9.43 mmol/L.<sup>9</sup>

### **2.3.5. UREA**

La urea es el principal producto del catabolismo de proteínas, pasa por los glomérulos y aproximadamente del 25 al 40% es reabsorbida en los túbulos renales<sup>9</sup>.

Una disminución de la concentración de urea en la sangre es una indicación indirecta de que el metabolismo del amoníaco está alterado, ya que su formación depende de un metabolismo hepático adecuado del amoníaco, o bien en casos de desnutrición. Por otro lado, un incremento puede estar relacionado con hemorragia intestinal, ya que se incrementa la formación de amoníaco en el intestino generado por la degradación de las proteínas de la sangre, las cuales son rápidamente metabolizadas durante el primer paso del sistema porta por el hígado, resultando en un incremento de urea en la sangre sin aumento de creatinina<sup>9,12</sup>, también puede incrementarse en deshidratación, choque séptico, insuficiencia cardiaca, falla renal, obstrucción y/o ruptura de las vías urinarias bajas<sup>9</sup>.

Las toninas tienen mayor concentración de urea que los mamíferos terrestres, debido a la dieta rica en proteínas<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 14.99 – 20.7 mmol/L.<sup>9</sup>

### **2.3.6. CREATININA**

La creatinina se forma por el metabolismo musculoesquelético, no es influenciada por dieta o hemorragia intestinal y no es reabsorbida por los túbulos renales por lo que es excretada en la orina después de haber sido filtrada por los glomérulos, haciéndola más específica de daño renal que la urea<sup>9,13,17</sup>.

Su concentración puede elevarse en casos de deshidratación causado por decremento en la perfusión renal, insuficiencia cardiaca, choque séptico, falla renal, obstrucción y/o ruptura de vías urinarias bajas<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 88.4 – 176.8  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>9</sup>

### **2.3.7. COLESTEROL**

El colesterol es un lípido constituyente principal de la membrana celular y es la base para la síntesis de ácidos grasos y esteroides<sup>13</sup>. El hígado es el órgano con mayor síntesis de colesterol, producto de la formación de ácidos biliares, por lo que una disminución está asociada a insuficiencia hepática o a puentes porto sistémicos, relacionado a alteraciones en el metabolismo de los ácidos biliares, así como hipotiroidismo, malabsorción e inanición prolongada<sup>9,12</sup>. En toninas el incremento en su concentración puede estar asociado a colestasis, necrosis pancreática fatal, pancreatitis, diabetes mellitus, hipotiroidismo, síndrome nefrótico e hiperadrenocorticismos<sup>9</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 3.87 – 6.72  $\text{mmol/L}$ .<sup>9</sup>

### **2.3.8. TRIGLICÉRIDOS**

Los triglicéridos son los lípidos más importantes en el almacenamiento del exceso de energía en el tejido adiposo<sup>13</sup>. Los valores de triglicéridos dependen de la dieta por lo que pueden variar si se modifica la dieta. Al igual que el colesterol, los triglicéridos se incrementan en enfermedades hepáticas obstructivas, pancreatitis, diabetes mellitus, hipotiroidismo, síndrome nefrótico e hiperadrenocorticismos y disminuyen en inanición, malabsorción e hipertiroidismo<sup>9,13</sup>.

Valores de referencia publicados para toninas en cautiverio 0.50 – 1.92 mmol/L.<sup>9</sup>

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. GENERAL**

Establecer valores de referencia de analitos selectos del hemograma y perfil bioquímico de toninas (*Tursiops truncatus*) en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya; mediante el análisis estadístico retrospectivo de la información recabada en el laboratorio de Diagnóstico del Instituto Vía Delphi en los últimos 4 años con la finalidad de realizar la interpretación adecuada de los análisis de laboratorio de rutina.

#### **3.2. ESPECÍFICOS**

1. Detallar el método y sitio de venopunción para colección de muestras sanguíneas de toninas utilizado en Grupo Vía Delphi.
2. Describir la técnica de transporte y almacenamiento de muestras sanguíneas.
3. Mencionar el tiempo desde la colección de muestras sanguíneas hasta el análisis de las mismas.
4. Registrar hematocrito, número de eritrocitos, número de leucocitos y sus diferenciales (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos), hemoglobina, volumen globular medio y concentración globular media de hemoglobina de sangre de toninas obtenida mediante condicionamiento operante positivo y almacenada en tubos al vacío que contienen EDTA K<sub>3</sub> como anticoagulante; de los análisis hematológicos realizados en los últimos 4 años.
5. Registrar velocidad de sedimentación globular de sangre de toninas obtenido mediante condicionamiento operante positivo en tubos al vacío que contienen

citrato de sodio al 3.8% como anticoagulante; de los análisis hematológicos realizados en los últimos 4 años.

6. Registrar glucosa, colesterol, triglicéridos, urea, creatinina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina; gama glutamiltransferasa, proteínas totales, albúmina, globulinas, relación albúmina: globulinas e hierro de suero de toninas obtenido mediante condicionamiento operante positivo y obtenida en tubos al vacío sin aditivo; de los análisis bioquímicos realizados en los últimos 4 años.
7. Establecer los valores de referencia mediante métodos estadísticos descriptivos gráficos y numéricos de la población de toninas de Grupo Vía Delphi.
8. Establecer si existen diferencias entre las medias de machos y hembras dentro de la categoría de sexo, mediante métodos de estadística inferencial, en los valores de referencia obtenidos de las toninas estudiadas.
9. Establecer si existen diferencias entre las medias de los grupos crías, juveniles y adultos dentro de la categoría de edades, mediante métodos de estadística inferencial, en los valores de referencia obtenidos de las toninas estudiadas.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

### **1. ÁREA DE ESTUDIO**

#### **1.1. LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS**

El laboratorio se localiza dentro de las instalaciones del delfinario Delphinus® Riviera Maya, situado junto al Parque eco-arqueológico Xcaret ubicado en el km 282 del corredor turístico de la Riviera Maya que abarca desde Cancún, hasta la zona arqueológica de Tulum, en el estado de Quintana Roo.

#### **1.2. TONINAS**

Para establecer los valores de referencia de analitos selectos del hemograma y bioquímica de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya, se utilizaron los resultados de muestras sanguíneas obtenidas por el Instituto Vía Delphi como parte de su programa de medicina preventiva desde enero del 2006 hasta diciembre del 2009, por lo que las muestras fueron colectadas de animales aparentemente sanos.

Las toninas se mantienen en 4 delfinarios de Grupo Vía Delphi: Delphinus® Xcaret (dentro del parque Xcaret), Delphinus® Riviera Maya (junto al parque Xcaret), Delphinus® Xel-Há (dentro del parque Xel-Há) y Delphinus® Dreams (Cancún), ubicados en el estado de Quintana Roo.

Las piscinas de las toninas consisten en áreas marinas delimitadas por mallas ciclónicas conectadas por muelles.

La población de toninas bajo el cuidado del Instituto Vía Delphi durante el periodo comprendido entre enero del 2006 y diciembre del 2009 estaba conformada por 72

ejemplares, de los cuales 31 animales son machos y 41 hembras. De éstos, se eliminaron las muestras de 6 animales (2 hembras y 4 machos) por presentar signos de enfermedad.

## **2. COLECCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

Mediante condicionamiento operante positivo se logró realizar la colección de muestras sanguíneas sin restringir al animal, disminuyendo el estrés del procedimiento y en consecuencia eliminar las posibles alteraciones en los analitos estudiados.

El material utilizado para la obtención fue una aguja hipodérmica de mariposa (*Becton Dickinson*<sup>®</sup>) de calibre 21G de 19 mm y tubo al vacío de 6.0 mL (*Becton Dickinson*<sup>®</sup>) sin aditivo para el suero, tubo al vacío de 4.0 mL (*Becton Dickinson*<sup>®</sup>) con EDTA K<sub>3</sub> como anticoagulante para el hemograma y tubo al vacío de 6.0 mL (*Becton Dickinson*<sup>®</sup>) con citrato de sodio al 3.8% como anticoagulante para la determinación de la velocidad de sedimentación globular.

El condicionamiento consistió en que la tonina se colocó en posición ventral, con la aleta caudal sobre las piernas o manos del entrenador, posteriormente se realizó asepsia con una torunda de algodón empapada en alcohol, para después realizar la venopunción de la vena central ventral de la aleta caudal con la aguja hipodérmica de mariposa y se colocaron los tubos al vacío en el dispositivo para colectar la sangre.

Es importante mencionar que las muestras sanguíneas fueron tomadas con el animal ayunado 15 horas en promedio.

### **3. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

Posterior a la obtención de la muestra, los tubos se colocaron en una gradilla de unicel dentro de una hielera con refrigerante para evitar daño y ser transportadas inmediatamente al laboratorio; el tiempo de transporte dependió de la localización del delfinario en donde se obtuvieron las muestras; desde 2 minutos en el delfinario Delphinus<sup>®</sup> Riviera Maya hasta 120 minutos en el delfinario Delphinus<sup>®</sup> Dreams.

### **4. HEMOGRAMA**

#### **4.1. FROTIS SANGUÍNEO**

El frotis sanguíneo se realizó mediante la técnica descrita por Núñez y Bouda<sup>13</sup> después de homogenizar la sangre en el Vari-Mix (*Thermolyne*<sup>®</sup>) durante 5 minutos.

El frotis se dejó secar al aire para posteriormente fijarlo y teñirlo con el kit de hemocolorante rápido (*Hycell*<sup>®</sup>), resultando una tinción de tipo Romanowsky.

La examinación se inició a 40 aumentos (40X) hasta 1000 aumentos (1000X).

#### **4.2. HEMATOCRITO**

Para determinar el hematocrito se colocó la sangre mezclada con EDTA K<sub>3</sub> en un tubo capilar para microhematocrito de 75 mm aproximadamente 90% de su capacidad, se selló con calor y se situó en una centrífuga para microhematocrito (*Sol-Bat*<sup>®</sup> P-25) a 12 243 x g durante 5 minutos, después de la centrifugación se

midió el volumen que ocupó la fracción de eritrocitos en el capilar utilizando el dispositivo para la lectura de microhematocrito (*Sol-Bat*<sup>®</sup> *PL-17*), en donde se obtuvo el porcentaje de eritrocitos, y posteriormente se dividió entre 100 para tener el resultado en unidades L/L.

#### **4.3. NÚMERO DE ERITROCITOS**

Se realizó mediante la técnica descrita por Coles<sup>14</sup> y Cork y Halliwell<sup>17</sup>, en donde se efectúa una dilución 1:200 de la sangre mezclada con EDTA K<sub>3</sub> con solución de Hayem en una pipeta de Thoma, se coloca en el agitador de pipetas para hematología (*Sol-Bat*<sup>®</sup> *A-03*) en donde se realizan 3000 vibraciones por minuto durante 1 minuto, posteriormente se eliminan 3 gotas y se coloca la cantidad suficiente de la dilución en el hemocitómetro para realizar el conteo celular a 400X.

#### **4.4. HEMOGLOBINA**

Determinado con un analizador por fotometría automático (*HemoCue B-Hemoglobin Photometer*<sup>®</sup>) con una gota de sangre con EDTA K<sub>3</sub>.

#### **4.5. VOLUMEN GLOBULAR MEDIO**

Se calculó mediante la división del hematocrito (L/L) multiplicado por 1000 entre el número de eritrocitos ( $10^{12}/L$ ).

#### **4.6. CONCENTRACIÓN GLOBULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA**

Se calculó mediante la división de la hemoglobina (g/L) entre el hematocrito (L/L).

#### **4.7. VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR**

Para la determinación se utilizó sangre con citrato de sodio como anticoagulante, dejando sedimentar la muestra en la gradilla de tipo Seditainer Stand (*Becton Dickinson*<sup>®</sup>) durante 60 minutos para posteriormente realizar la lectura.

#### **4.8. NÚMERO DE LEUCOCITOS**

Se realizó mediante la técnica descrita por Núñez y Bouda<sup>13</sup> y Cork y Halliwell<sup>17</sup> en donde se realiza una dilución 1:20 de la sangre mezclada con EDTA K<sub>3</sub> con solución de Türk en una pipeta de Thoma, se coloca en el agitador de pipetas para hematología (*Sol-Bat*<sup>®</sup> A-03) en donde se realizan 3000 vibraciones por minuto durante 1 minuto, posteriormente se eliminan 3 gotas y se coloca la cantidad suficiente de la dilución en el hemocitómetro para realizar el conteo celular a 100X.

#### **4.9. CONTEO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS**

Se hizo conteo de los valores relativos mediante la observación del frotis sanguíneo con la técnica descrita por Núñez y Bouda<sup>13</sup> y Cork y Halliwell<sup>17</sup> a 1000X utilizando un contador digital (*Kitlab*<sup>®</sup>), el resultado de cada valor relativo fue multiplicado por el número de leucocitos para obtener los valores absolutos de los diferentes tipos de células.

## 5. BIOQUÍMICA SÉRICA

Para analizar el suero se colectó sangre en tubos al vacío sin aditivo y una vez retraído el coágulo, se colocó en la centrífuga (*Eppendorf® centrifuge 5702 R*) y se separó el suero con una jeringa para colocarlo en un tubo para microcentrífuga de 2 mL (*Costar®*). Se separaron mínimo 2 mL de suero para permitir repetir los análisis si fuese necesario.

### 5.1. PROTEÍNAS PLASMÁTICAS, ALBÚMINA, HIERRO, ALANINA AMINOTRANSFERASA, ASPARTATO AMINOTRANSFERASA, DESHIDROGENASA LÁCTICA, FOSFATASA ALCALINA, GAMA GLUTAMILTRANSFERASA, GLUCOSA, UREA, CREATININA, COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS.

El análisis del suero se realizó con un sistema de química seca semiautomático (*Sistema Químico Vitros DT60 II y DTSC II*), en donde la metodología fue por pruebas colorimétricas con 2 principios de medición diferentes (**Cuadro 1**) utilizando reactivos secos.

### 5.2. GLOBULINAS Y RELACIÓN ALBÚMINA: GLOBULINAS

El valor se obtuvo por cálculo automático realizado por el Sistema Químico Vitros DT60 II.

## **6. ANÁLISIS DE DATOS**

### **6.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA**

#### **6.1.1. MÉTODOS DESCRIPTIVOS GRÁFICOS**

Para el análisis de los datos se capturaron los resultados obtenidos en Microsoft Excel 2007, con el objetivo de resumir y exponer los aspectos más trascendentes de las muestras; se realizaron histogramas poblacionales de cada analito.

#### **6.1.2. MÉTODOS DESCRIPTIVOS NUMÉRICOS**

Se calcularon medidas de tendencia central (media aritmética) y medidas de dispersión (desviación estándar y varianza) de los resultados de los analitos de la población total, así como de los resultados de las poblaciones de las diferentes categorías: sexo (machos y hembras) y edad (crías: 0 a 2 años, juveniles: 2.1 a 7 años y adultos: mayores de 7.1 años).

Además se calculó curtosis y coeficiente de asimetría de los resultados de los analitos de la población total con el objetivo de definir si la población presentaba una distribución normal ya que de esto dependió el método (percentiles o desviación estándar) para obtener los valores de referencia de cada analito.

Se planteó que si los valores de curtosis y coeficiente de asimetría entraban dentro del rango  $\pm 0.5$  entonces se consideraba que la población presentaba una distribución normal y se fijaron los límites superior e inferior tomando en consideración la media  $\pm 2$  desviaciones estándar obteniendo el 95% de confianza. En los casos en que la población no presentó distribución normal, se utilizaron percentiles al 95% de confianza para determinar los límites inferior y superior<sup>5</sup>.

## 6.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

Para el análisis de los datos se realizaron diferentes pruebas estadísticas utilizando Microsoft Excel 2007 para establecer si existían diferencias significativas entre las diferentes categorías: sexo (machos y hembras) mediante la prueba de hipótesis para la contrastación de dos medias por el método de distribución “z”; y edad (crías: 0 a 2 años, juveniles: 2.1 a 7 años y adultos: mayores de 7.1 años) mediante el análisis de varianza para el diseño completamente aleatorizado.

### 6.2.1. CATEGORÍA DE SEXOS

La población total se dividió en dos grupos (hembras y machos) para evaluar si existía diferencia estadística significativa entre las medias de estos grupos. Para lograrlo se realizó la prueba de hipótesis para la contrastación de dos medias por el método de distribución “z” con una confianza del 95%<sup>34</sup>:

$$Z_c = \mu_1 - \mu_2 / \sqrt{\sigma_1^2 / N_1 + \sigma_2^2 / N_2}$$

Donde:

$\mu$  = media aritmética de cada grupo

$\sigma^2$  = varianza de cada grupo de la categoría

N = número de observaciones de la población

Planteando lo siguiente:

Si  $H_0 = \mu_1 = \mu_2$  entonces no existe diferencia significativa entre las medias de los grupos.

Si  $H_a = \mu_1 \neq \mu_2$  entonces si existe diferencia significativa entre las medias de los grupos.

### 6.2.2. CATEGORÍA DE EDADES

Para determinar si existían diferencias entre edades, la población total se dividió en 3 grupos: crías desde el nacimiento hasta el destete (0 a 2 años), juveniles desde destete hasta la madurez sexual (2.1 a 7 años) y adultos de la madurez sexual en adelante.

Posteriormente, se realizó contrastación de las medias de los grupos por medio del análisis de varianza [Tabla ANDEVA (**Cuadro 2**)] para el diseño completamente aleatorizado<sup>34</sup>, para definir se existía diferencia estadística significativa al menos en una de las medias.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	RAZÓN DE VARIANZA
TRATAMIENTO	$SC_{tx} = \sum [(T_{.j}^2/n_j) - (T_{..}^2/N)]$	k-1	$CM_{tx} = SC_{tx}/(k-1)$	RV = $CM_{tx} / CM_{error}$
ERROR	$SC_{error} = SC_{total} - SC_{tx}$	N-k	$CM_{error} = SC_{error} / (N-k)$	
TOTAL	$SC_{total} = \sum \sum x_{ij}^2 - (T_{..}^2/N)$	N-1		

**Cuadro 2.** Tabla de Análisis de Varianza para el Diseño Completamente Aleatorizado

Donde:

$T_{.j}$ = Suma total de las observaciones del j-ésimo grupo

$T_{..}$ = Suma total de las observaciones de todos los grupos

$n_j$ = Número total de observaciones del j-ésimo grupo

$N$  = Número total de observaciones de todos los grupos

$x_{ij}$  =  $i$ -ésima observación del  $j$ -ésimo grupo

$k$  = Número de grupos

Planteando lo siguiente:

Si  $H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$  entonces no existe diferencia significativa entre las medias de los grupos.

Si  $H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$  entonces si existe diferencia significativa entre al menos una de las medias de los grupos.

En los casos en los que se encontró diferencia, se realizó la prueba de diferencia verdaderamente significativa (DVS) de Tukey<sup>34</sup> con un nivel de significación de 0.5 y así precisar cuál de las medias de los grupos difiere.

Prueba de DVS de Tukey:

$$DVS = q_{\alpha, k, N-k} \sqrt{CM_{\text{error}}/n}$$

Donde:

$q$  = Valor obtenido de las tablas  $K$  con  $\alpha$ ,  $k$ ,  $N-k$

$\alpha$  = Nivel de significación

$k$  = Número de medias

$N$  = Número de observaciones de la población

$n$  = Número de observaciones del grupo

Planteando lo siguiente:

Si  $H_0 = \mu_1 = \mu_2$  entonces no existe diferencia significativa entre las medias de los grupos.

Si  $H_a = \mu_1 \neq \mu_2$  entonces si existe diferencia significativa entre las medias de los grupos.

## RESULTADOS

La población total de toninas fue de 72 animales pero se excluyeron los análisis de 6 animales (2 hembras y 4 machos) por presentar enfermedad.

Se obtuvieron un total de 877 muestras de sangre de 66 animales de los cuales 39 son hembras y 27 son machos.

En la categoría de edades se analizaron 13 crías, 22 juveniles y 44 adultos; es importante mencionar que las edades se calcularon en la fecha del análisis por lo que algunos animales están dentro de 2 grupos.

En las **Figuras 3 a 32** se observan los histogramas de cada analito de la población total, de la misma manera en el **Cuadro 3** se resumen las medidas de tendencia central, de dispersión, curtosis y coeficiente de asimetría de todos los analitos de la población total. En los **Cuadros 4 y 5** se muestran las medidas de tendencia central y de dispersión de la categoría de sexos y de edades respectivamente.

## VALORES DE REFERENCIA

Basado en las pruebas de curtosis y coeficiente de asimetría se determinó que los siguientes analitos presentaron una distribución normal: número de eritrocitos, número de leucocitos, valor relativo de neutrófilos, proteínas totales, deshidrogenasa láctica y creatinina, por lo cual se utilizó el método de desviaciones estándar (media de la población  $\pm 2$  desviaciones estándar) para determinar los límites inferior y superior de los valores de referencia obteniéndose, según el teorema empírico, el 95% de confianza.

Se utilizó el método de percentiles (al 95% de confianza) para determinar los límites inferior y superior en los siguientes analitos: hematocrito, hemoglobina, volumen globular medio, concentración globular media de hemoglobina, valor absoluto de neutrófilos, valor relativo y valor absoluto de linfocitos, eosinófilos y monocitos, velocidad de sedimentación globular, hierro, urea, glucosa, fosfatasa alcalina, albúmina, globulinas, relación albúmina: globulinas, triglicéridos, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gama glutamiltransferasa y colesterol, ya que éstos no presentaron una distribución normal.

En el **Cuadro 6** se presentan los valores de referencia obtenidos.

## **DIFERENCIAS ENTRE POBLACIONES**

### **SEXOS**

Con base en el análisis de los datos por medio de la prueba de hipótesis para la contrastación de dos medias por el método de distribución “z” se encontró diferencia significativa entre hembras y machos en 11/30 (36.7%) analitos evaluados.

Las hembras tuvieron valores significativamente mayores que los machos en las medias de **volumen globular medio** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 3.32 fL\*, **concentración globular media de hemoglobina** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 5.49 g/L, **velocidad de sedimentación globular** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 5.92 mm/h, concentración sérica de **albúmina** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 0.97 g/L y de **hierro** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 11.81  $\mu\text{mol/L}$ .

Los machos presentaron valores significativamente mayores que las hembras en las medias de **número de eritrocitos** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de  $0.1 \cdot 10^{12}/L$ , **número de leucocitos** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de  $0.44 \cdot 10^9/L$ , **valor absoluto de neutrófilos** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de  $0.34 \cdot 10^9/L$ , actividad sérica de **deshidrogenasa láctica** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 52.84 U/L, **fosfatasa alcalina** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 93.28 U/L y concentración sérica de **urea** ( $P < 0.01$ ) con diferencia entre las medias de 1.23 mmol/L.

No hubo diferencia estadística significativa entre las medias de hematocrito, hemoglobina, valor relativo de neutrófilos, valores relativos de linfocitos, monocitos y eosinófilos, valores absolutos de linfocitos, monocitos y eosinófilos, concentración sérica de proteínas totales, globulinas, glucosa, creatinina, colesterol, triglicéridos, actividad sérica de alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gamma glutamiltransferasa y relación albúmina globulinas de toninas hembras y machos.

## **EDADES**

Con base en el estudio de los datos por medio del análisis de varianza para el diseño completamente aleatorizado se encontró diferencia significativa en al menos una de las medias en 20/30 (66.7%) de analitos estudiados: hematocrito ( $P < 0.01$ ), número de eritrocitos ( $P < 0.01$ ), hemoglobina ( $P < 0.01$ ), volumen globular medio ( $P < 0.01$ ), concentración globular media de hemoglobina ( $P < 0.05$ ), valor relativo de neutrófilos ( $P < 0.01$ ), valor absoluto de neutrófilos ( $P < 0.01$ ), valor relativo de eosinófilos ( $P < 0.01$ ), valor absoluto de eosinófilos ( $P < 0.01$ ), velocidad de sedimentación globular ( $P < 0.05$ ), concentración sérica de proteínas totales ( $P < 0.01$ ), globulinas ( $P < 0.01$ ), hierro ( $P < 0.05$ ), triglicéridos ( $P < 0.01$ ), creatinina

( $P < 0.01$ ), actividad sérica de fosfatasa alcalina ( $P < 0.01$ ), alanina aminotransferasa ( $P < 0.01$ ), aspartato aminotransferasa ( $P < 0.01$ ), gama glutamiltransferasa ( $P < 0.01$ ) y relación albúmina: globulinas ( $P < 0.01$ ).

Después de realizar la prueba DVS de Tukey, se encontró que las crías presentaron los valores más bajos de **hematocrito** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 0.04 L/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 0.03 L/L,  $P < 0.01$ ), **hemoglobina** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 17.97 g/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 16.85 g/L,  $P < 0.01$ ), **volumen globular medio** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 5.29 fL,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 9.82 fL,  $P < 0.05$ ), **concentración globular media de hemoglobina** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 5.71 g/L,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 8.56 g/L,  $P < 0.05$ ), **valor relativo de eosinófilos** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 5.16%,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 8.78%,  $P < 0.01$ ), **valor absoluto de eosinófilos** (diferencia entre las medias de crías y juveniles  $0.39 \times 10^9/L$ ,  $P > 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos  $0.68 \times 10^9/L$ ,  $P < 0.05$ ), concentración sérica de **proteínas totales** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 8.89 g/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 11.95 g/L,  $P < 0.01$ ), **globulinas** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 7.75 g/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 10.14 g/L,  $P < 0.01$ ), **hierro** (diferencia entre las medias de crías y juveniles  $7.32 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos  $5.85 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.05$ ), **creatinina** (diferencia entre las medias de crías y juveniles  $57.33 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos  $58.54 \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.01$ ), actividad sérica de **alanina aminotransferasa** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 46.40 U/L,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de

crías y adultos 36.46 U/L,  $P < 0.01$ ), **aspartato aminotransferasa** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 163.21 U/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 190.73 U/L,  $P < 0.01$ ) comparado con juveniles y adultos.

Contrariamente, las crías presentaron los valores más altos de **valor absoluto de neutrófilos** (diferencia entre las medias de crías y juveniles  $4.04 \times 10^9/L$ ,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos  $7.46 \times 10^9/L$ ,  $P < 0.01$ ), **valor relativo de neutrófilos** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 0.75%,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 0.87%,  $P < 0.01$ ), **velocidad de sedimentación globular** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 8.9 mm/h,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 6.75 mm/h,  $P < 0.05$ ), concentración sérica de **triglicéridos** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 0.30 mmol/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 0.20 mmol/L,  $P < 0.01$ ), actividad sérica de **fosfatasa alcalina** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 320.43 U/L,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 467.98 U/L,  $P < 0.01$ ) y **relación albúmina: globulinas** (diferencia entre las medias de crías y juveniles 0.36,  $P < 0.01$  y diferencia entre las medias de crías y adultos 0.42,  $P < 0.01$ ) comparado con juveniles y adultos.

Los juveniles presentaron la concentración sérica más baja de **triglicéridos** (diferencia entre las medias de juveniles y crías 0.30 mmol/L,  $P < 0.01$ , diferencia entre las medias de juveniles y adultos 0.10 mmol/L,  $P < 0.01$ ) pero los niveles más altos de **número de eritrocitos** (diferencia entre las medias de juveniles y crías  $0.01 \times 10^{12}/L$ ,  $P > 0.05$  y diferencia entre las medias de juveniles y adultos  $0.17 \times 10^{12}/L$ ,  $P > 0.01$ ) y concentración sérica de **gama glutamiltransferasa** (diferencia entre las medias de juveniles y crías 70.47 U/L,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de juveniles y adultos 73.06 U/L,  $P < 0.05$ ) comparado con crías y adultos.

Los adultos tienen menor **valor relativo de neutrófilos** (diferencia entre las medias de adultos y crías 7.46%,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de adultos y juveniles 3.41%,  $P < 0.05$ ), **valor absoluto de neutrófilos** (diferencia entre las medias de adultos y crías  $0.75 \times 10^9/L$ ,  $P < 0.05$  y diferencia entre las medias de adultos y juveniles  $0.11 \times 10^9/L$ ,  $P < 0.05$ ).

No se encontró diferencia significativa entre las medias de número de leucocitos, valores relativos de linfocitos y monocitos, valores absolutos de linfocitos y monocitos, concentración sérica de albúmina, glucosa, urea, colesterol y actividad de deshidrogenasa láctica de toninas (*Tursiops truncatus*) de diferentes grupos de edades.

Se detectó que los valores relativos y absolutos de linfocitos y monocitos, concentración sérica de glucosa y colesterol no fueron afectados por la edad ni por el sexo de las toninas (*Tursiops truncatus*) estudiadas.

En el **Cuadro 7** se resume el nivel de significación a la que se encontraron diferencias significativas entre los grupos de sexo y edad de cada analito estudiado.

## DISCUSIÓN

Los valores de referencia obtenidos en este estudio presentan intervalos más amplios que los publicados anteriormente debido posiblemente a que el tamaño de la población analizada es más heterogénea que las poblaciones de estudios publicados, ya que de acuerdo a lo mencionado por Meyer y Harvey (2004), las poblaciones homogéneas tienden a tener intervalos de referencia más estrechos que las poblaciones heterogéneas.

Los valores de referencia de los analitos publicados por Bossart, *et al* (2001) están dentro de los intervalos obtenidos en éste estudio, exceptuando fosfatasa alcalina, deshidrogenasa láctica y triglicéridos.

Los valores de referencia de fosfatasa alcalina y triglicéridos calculados en este estudio fueron menores que los publicados por Bossart, *et al* (2001), ésta diferencia probablemente se debe a que la alimentación de los animales objeto de este estudio está basado en capelín (*Mallotus villosus*) que tiene en promedio 3.88% de grasas y éstos analitos son influenciados por esta variable (Bossart, *et al* 2001).

Los valores de referencia de deshidrogenasa láctica calculados fueron mayores que los publicados por Bossart, *et al* (2001), pero no se pudo encontrar datos suficientes para explicar este hallazgo, sin embargo, se han reportado cambios intraespecíficos entre poblaciones de toninas (*Tursiops truncatus*) de diferentes regiones por Cornell (1983).

La edad y el sexo han sido identificados como predictores importantes de variantes en el hemograma y bioquímica en varias especies. Asociaciones similares sobre las diferencias encontradas en este estudio han sido reportadas anteriormente con o sin explicación en mamíferos marinos (Reidarson, *et al* 1999; Bossart, *et al* 2001; Reidarson 2003; Varela, *et al* 2006; Goldstein, *et al* 2006; Hall, *et al* 2007; Venn-Watson, *et al* 2007; Noda, *et al* 2007).

En la población de toninas (*Tursiops truncatus*) estudiadas en este trabajo, se analizaron 15 analitos del hemograma y 15 analitos de bioquímica sérica en los cuales se encontró que el 80% de éstos están influenciados por el género o la edad del individuo.

El volumen globular medio, concentración globular media de hemoglobina y concentración de hierro son mayores en hembras debido a que tienen mayor demanda metabólica de hierro para la gestación y lactancia (Venn-Watson, *et al* 2007; Goldstein, *et al* 2006; Bossart, *et al* 2001) teniendo en cuenta que la población de hembras en este estudio son en su mayoría adultas que están dentro del programa de reproducción y no se consideró el estado de gestación o lactancia como criterio de exclusión.

Urea, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa láctica son mayores en machos que en hembras debido a que los machos tienen mayor masa muscular (Venn-Watson, *et al* 2007; Goldstein, *et al* 2006), además la mayoría de machos en este estudio están en grupos sin hembras, lo que incrementa las interacciones de juego, dominancia, etc., provocando mayor daño físico que las hembras. Por otro lado, en el delfinario donde se encuentran los machos, existen mayor cantidad de peces

silvestres mucho más grandes que en otros delfinarios y se ha observado en múltiples ocasiones a los machos cazando presas vivas.

El número de leucocitos y valor absoluto de neutrófilos fue mayor en machos posiblemente por la misma razón de mayor daño físico entre machos, lo que provoca que estén más expuestos a infecciones bacterianas.

El hematocrito, hemoglobina y volumen globular medio, concentración globular media de hemoglobina y concentración de hierro son menores en crías debido a la expansión del plasma por el consumo de leche y aumento en la destrucción de eritrocitos fetales y deficiencia de hierro por la baja concentración en la leche tal como lo han mencionado en las publicaciones de Bossart (2001), Reidarson (1999) y Jain (1993).

El número de neutrófilos fue mayor en crías, de acuerdo a lo escrito por Jain (1993) y Noda (2007), durante el nacimiento y estrés agudo provocado por el manejo para la colección de sangre (los animales a esta edad están en proceso de aprendizaje, por lo que aún no están habituados a este manejo), se libera corticosteroides que elevan el número de neutrófilos de la sangre, efecto que puede durar varios días.

Los valores relativo y absoluto de los eosinófilos, las proteínas totales, globulinas, triglicéridos, creatinina y actividad de gama glutamiltransferasa, aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa van incrementando proporcionalmente conforme avanza la edad en las toninas. El número de eosinófilos y la actividad de la aspartato aminotransferasa se incrementan cuando se presenta parasitosis (Bossart, et al 2001, Cork, et al 2002), por lo que los

adultos tienen mayor probabilidad de infestación, ya que los animales de este estudio tienen la oportunidad de cazar presas vivas por estar en áreas naturales; en cambio las crías aún no han desarrollado esta habilidad por lo que su dieta se reduce a leche materna y pescado ofrecido por los entrenadores. El incremento de la concentración de proteínas totales es resultado del incremento de globulinas debido a la maduración del sistema inmunológico, esto provoca que la relación albúmina globulinas disminuya conjuntamente al incremento de globulinas, ya que la concentración de albúmina se mantiene relativamente estable durante el crecimiento (Reidarson 1999; Bossart, *et al* 2001; Venn-Watson, *et al* 2007).

El número de eritrocitos y la actividad de la fosfatasa alcalina van disminuyendo con la edad en este estudio. En trabajos anteriores se ha reportado un decremento similar del número de eritrocitos, aunque la razón de esta reducción no está muy clara, se han propuesto factores genéticos, ambientales y enfermedades subclínicas como explicación a este fenómeno (Venn-Watson, *et al* 2007; Goldstein, *et al* 2006). La actividad de la fosfatasa alcalina es mayor en animales jóvenes debido al crecimiento óseo durante los primeros años de vida (Reidarson 1999; Bossart, *et al* 2001; Venn-Watson, *et al* 2007).

Las diferencias estadísticas encontradas entre sexos y edades son interesantes pero no representan relevancia clínica ya que las medias de las poblaciones se encuentran dentro de los intervalos de los valores de referencia calculados para la población total.

## CONCLUSIÓN

Con los resultados se determinaron los valores de referencia de los analitos selectos del hemograma: hematocrito, número de eritrocitos, hemoglobina, volumen globular medio, concentración globular media de hemoglobina, número de leucocitos, valor relativo y absoluto de neutrófilos, valor relativo y absoluto de linfocitos, valor relativo y absoluto de monocitos, valor relativo y absoluto de eosinófilos, velocidad de sedimentación globular y de bioquímica: concentración sérica de hierro, proteínas totales, albúmina, globulinas, glucosa, urea, creatinina, colesterol y triglicéridos; actividad de fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gama glutamiltransferasa, deshidrogenasa láctica y relación albúmina: globulinas, de toninas (*Tursiops truncatus*) en áreas naturales delimitadas de la Riviera Maya en el Estado de Quintana Roo, México.

Aunque se han realizado trabajos anteriores para definirlos, no se había efectuado ninguno con esta población particular bajo las condiciones ambientales, nutricionales y de manejo que la caracterizan; la información obtenida en este estudio indica que el 80% de los analitos selectos son afectados significativamente por la edad (66.7%) y sexo (36.7%) de toninas (*Tursiops truncatus*) aparentemente sanas; aunado a esto las asociaciones más fuertes fueron por edad, siendo las crías las que presentaron diferencia significativa en 90% de los analitos influenciados por la edad.

Por esto, es necesario realizar investigaciones futuras sobre estos valores en poblaciones homogéneas y/o heterogéneas en los sitios donde se encuentren estos ejemplares para poder llegar a conocer con detenimiento la fisiología de las toninas (*Tursiops truncatus*) por sexos y edades para mantener la salud de los

animales mediante el estudio integral individual aplicando la nutrición, la medicina preventiva y el diagnóstico oportuno a través de la anamnesis, examen físico y análisis de laboratorio.

Por último la información obtenida en este trabajo coadyuva a entender la trascendencia de la Fisiología y Patología para lograr una interpretación adecuada de los resultados hematológicos a fin de conseguir un diagnóstico definitivo preciso traducido en un tratamiento adecuado y acertado para salvaguardar la vida de los animales mantenidos en áreas naturales delimitadas.

## REFERENCIAS

1. AGUILAR-AGUILAR R, CONTRERAS-MEDINA R. La Distribución de los Mamíferos Marinos en México: un enfoque panbiogeográfico. En LLORENTE J, MORRONE JJ (editores). Introducción a la biogeografía en Latinoamérica: teorías, conceptos, métodos y aplicaciones. Facultad de Ciencias, UNAM, México D.F. 2001: 213-219.
2. CARWARDINE M. Ballenas, Delfines y Marsopas. España: Omega, 2003:192.
3. HASSE PA, SCHENEIDER K. Birth demographics of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in Doubtful Sound, Fiordland, New Zealand - preliminary findings. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 2001, 35:675-680.
4. WELLS RS, SCOTT MD. Bottlenose Dolphin. In PERRIN WF, WÛRSIG B, THEWISSEN JGM, editors. Encyclopedia of Marine Mammals. United States of America: Academic Press, 2002:122-128.
5. WILLIAMS TM, FRIEDL WA, HAUN JE. The physiology of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): heart rate, metabolic rate and plasma lactate concentration during exercise. J exp Biol 1993; 179:31-46.
6. ROMMEL SA, LOWENSTINE LJ. Gross and Microscopic Anatomy. In DIERAUF LA, GULLAND FMD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. United States of America: CRC Press, 2001:129-164.

7. WILLIAMS TM, NOREN D, BERRY P, ESTES A, ALLISON C, KIRTLAND J. The Diving Physiology of Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*). III. Thermoregulation at depth. The Journal of Experimental Biology; 1999; 202:2763-2769.
8. PONGANIS PJ. Circulatory System. In PERRIN WF, WÛRSIG B, THEWISSEN JGM, editors. Encyclopedia of Marine Mammals. United States of America: Academic Press, 2002:229-231.
9. BOSSART GD, REIDARSON TH, DIERAUF LA, DUFFIELD DA. Clinical pathology. In DIERAUF LA, GULLAND FMD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. United States of America: CRC Press, 2001:383-436.
10. REIDARSON TH. Cetacea (whales, dolphins, porpoises). In FOWLER ME, MILLER E, editors. Zoo and Wild Medicine Current Therapy. 5<sup>th</sup> ed. United States of America: Saunders-Elsevier, 2003:442-459.
11. MACDONALD AA, CARR PA, CURRIET RJW. Comparative anatomy of the foramen ovale in the hearts of cetaceans; J. Anat; 2007, 211:64- 77.
12. MEYER DJ, HARVEY JW. Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation & Diagnosis. 3<sup>rd</sup> ed. United States of America: Saunders, 2004. pp 4-26, 145-154, 173-189.
13. NUÑEZ OL, BOUDA J. Patología Clínica Veterinaria. México: UNAM FMVZ, 2007.

14. COLES EH. Diagnóstico y Patología en Veterinaria. 4<sup>ta</sup> ed. México: Interamericana McGraw-Hill, 1989.
15. GOLDSTEIN JD, REESE E, RELF JS, VARELA RA, MCCULLOCH SD, DEFRAN RH, *et al.* Hematologic, Biochemical, and Cytologic Findings from apparently healthy Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) inhabiting the Indian River Lagoon, Florida, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 2006; 42(2):447-454.
16. LATIMER KS, MAHAFFEY EA, PRASSE KW. *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 4<sup>rd</sup> ed. United States of America: Iowa State Press, 2003. 3-28, 46-78.
17. CORK SC, HALLIWELL RW. *The Veterinary Laboratory and field manual*. United Kingdom: Nottingham University Press, 2002, pp 56-57, 243-265, 299-325.
18. HALL AJ, WELLS RS, SWEENEY JC, TOWNSEND FI, BALMER BC, HOHN AA, *et al.* Annual, seasonal and individual variation in hematology and clinical blood chemistry profiles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, Florida. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2007; 148(2):266-277.
19. VENN-WATSON S, JENSEN ED, RIDGWAY SH. Effects of age and sex on clinicopathologic reference ranges in a healthy managed Atlantic bottlenose dolphin population. *J Am Vet Med Assoc*. 2007, 231(4):596-601.

20. NODA K, AKIYOSHI H, AOKI M, SHIMADA T, OHASHI F. Relationship between transportation stress and polymorphonuclear cell function of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. J. Vet. Med. Sci 2007, 69(4): 379-383.
21. VARELA RA, SCHWACKE L, FAIR PA, BOSSART GD. Effects of duration of capture and sample handling on critical care blood analytes in free-ranging bottlenose dolphins. J Am Vet Med Assoc. 2006; 229(12):1955-1961.
22. REIDARSON TH, MCBAIN JF. Hematologic, biochemical, and endocrine effects of dexamethasone on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). J Zoo Wild Med. 1999 Jun; 30(2):310-312.
23. JAIN NC. Essentials of Veterinary Hematology. United States of America: Lea & Febiger, 1993.
24. LIPPI G, SALVAGNO GL, MONTAGNANA M, BROCCO G, GUIDI GC. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. Clin Chem Lab Med. 2006; 44(3):311-316.
25. MORGAN LW, VAN BONN W, JENSEN ED, RIDGWAY SH. Effects of in vitro hemolysis on serum biochemistry values of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). J Zoo Wild Med. 1999; 30(1):70-75.
26. HEINS M, HEIL W, WITHOLD W. Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1995; 33(4):231-238.

27. ONO T, KITAGUCHI K, TAKEHARA M, SHIIBA M, HAYAMI K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. Clin Chem. 1981; 27(1):35-8.
28. JACKSON ML. Veterinary Clinical Pathology: An Introduction. United States of America: Blackwell Publishing, 2007:3-27, 55-63.
29. KING DP, ALDRIDGE BM, KENNEDY-STOSKOPF S, SCOTT JL. Immunology. In DIERAUF LA, GULLAND FMD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. United States of America: CRC Press, 2001:237-252.
30. ST.-AUBIN DJ, DIERAUF LA. Stress and Marine Mammals. In DIERAUF LA, GULLAND FMD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. United States of America: CRC Press, 2001:253-270.
31. REIDARSON TH. Inflammation in Marine Mammals. In FOWLER ME, MILLER E, editors. Zoo and Wild Medicine Current Therapy. 6<sup>th</sup> ed. United States of America: Saunders-Elsevier, 2008:308-311.
32. DUNN JL, BUCK JD, ROBECK TR. Bacterial Diseases of Cetaceans and Pinnipeds. In DIERAUF LA, GULLAND FMD, editors. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2<sup>nd</sup> ed. United States of America: CRC Press, 2001:309-335.
33. Manual del Operador Sistema VITROS DT II, No. publicación J04391, 2003-10-01.

34. DANIEL WW. Bioestadística: Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª ed. México: Limusa - Wiley, 2002.
35. CORNELL LH. Hematology and clinical chemistry values in the killer whale, *Orcinus orca* L. *Journal of Wildlife Diseases*, 1983; 19(3):259-264.

## **FIGURAS**

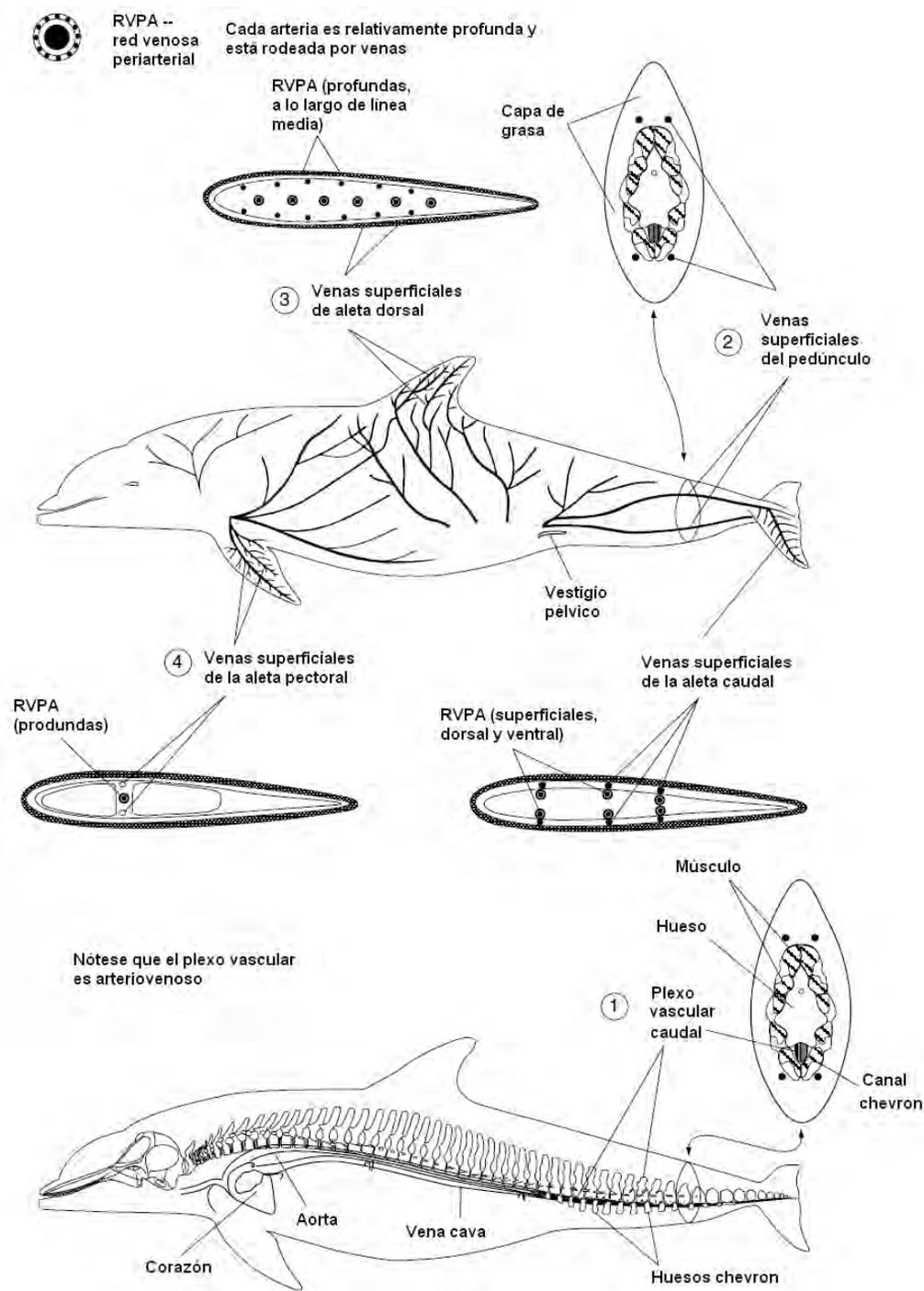
Figura 1:

BOSSART GD, REIDARSON TH, DIERAUF LA, DUFFIELD DA. Clinical pathology  
In DIERAUF LA, GULLAND FMD, editors. *CRC Handbook of Marine Mammal  
Medicine*. 2<sup>nd</sup> ed. United States of America: CRC Press, 2001:383-436.

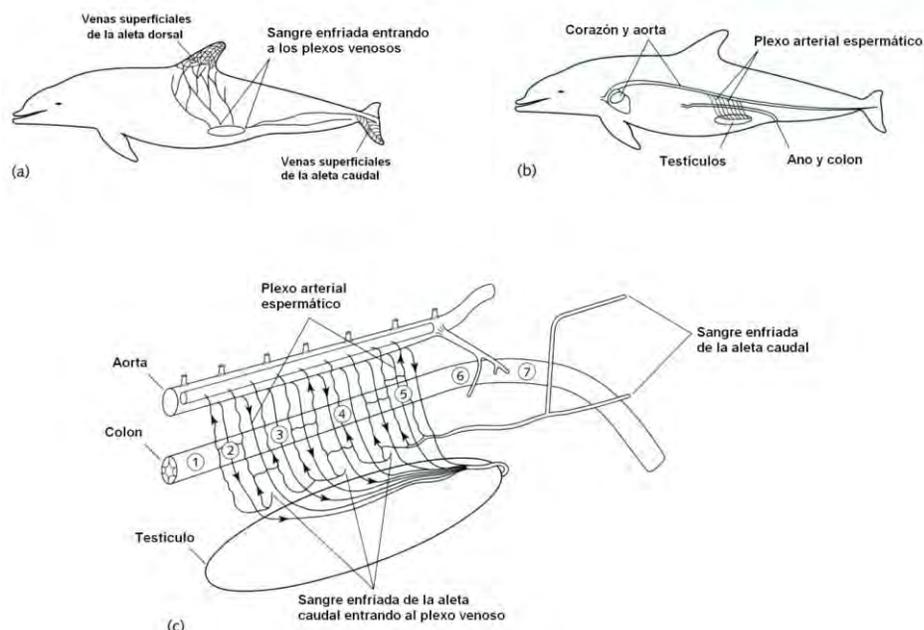
Figura 2:

WILLIAMS TM, WORTHY AJ. Anatomy and physiology: the challenge of aquatic  
living. In HOELZEL AR, editor. *Marine Mammal Biology: an evolutionary approach*.  
United Kingdom: Blackwell Publishing, 2004:73-97.

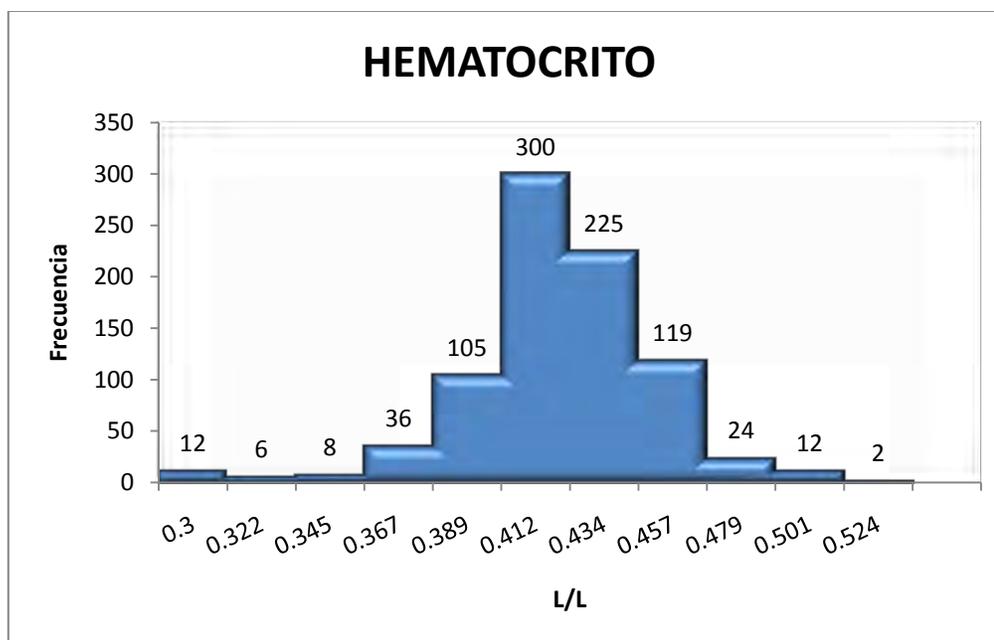
FIGURAS



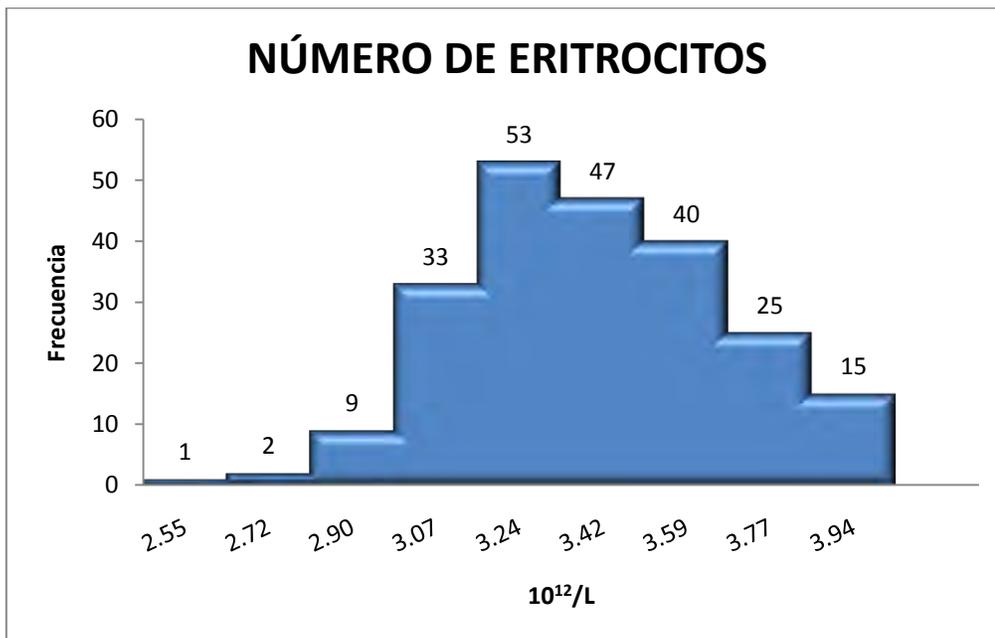
**Figura 1.** (1) Canal de los huesos chevron por donde pasa el plexo vascular caudal (2,3,4) Sitios de intercambio de calor por contracorriente en donde se realiza la venopunción para obtener muestras sanguíneas.



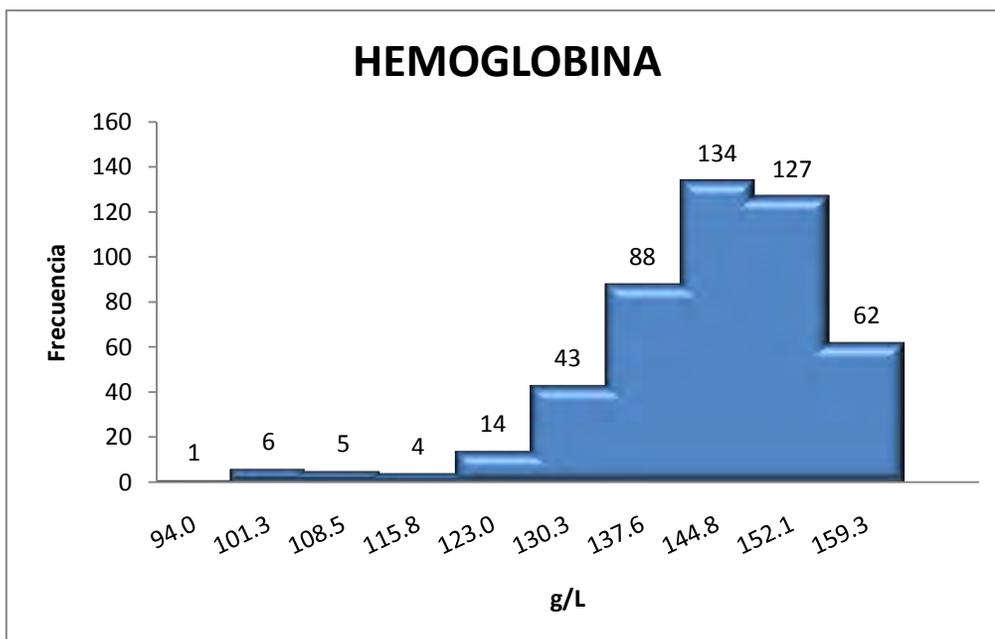
**Figura 2.** (a) Intercambio de calor por contracorriente en las aletas y testículos. (b,c) Camino por el cual la sangre enfriada en las aletas llega a órganos específicos para regular su temperatura. Los números del 1 al 7 representan sitios en el colon para evaluar la variación de temperatura de la sangre que entra y sale de los testículos.



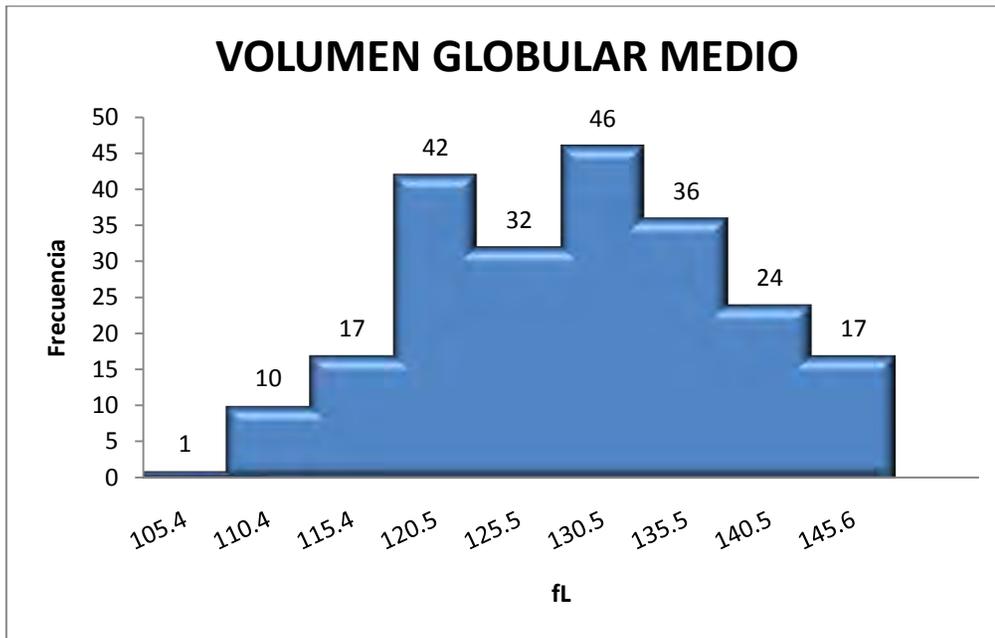
**Figura 3.** Histograma de hematocrito de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



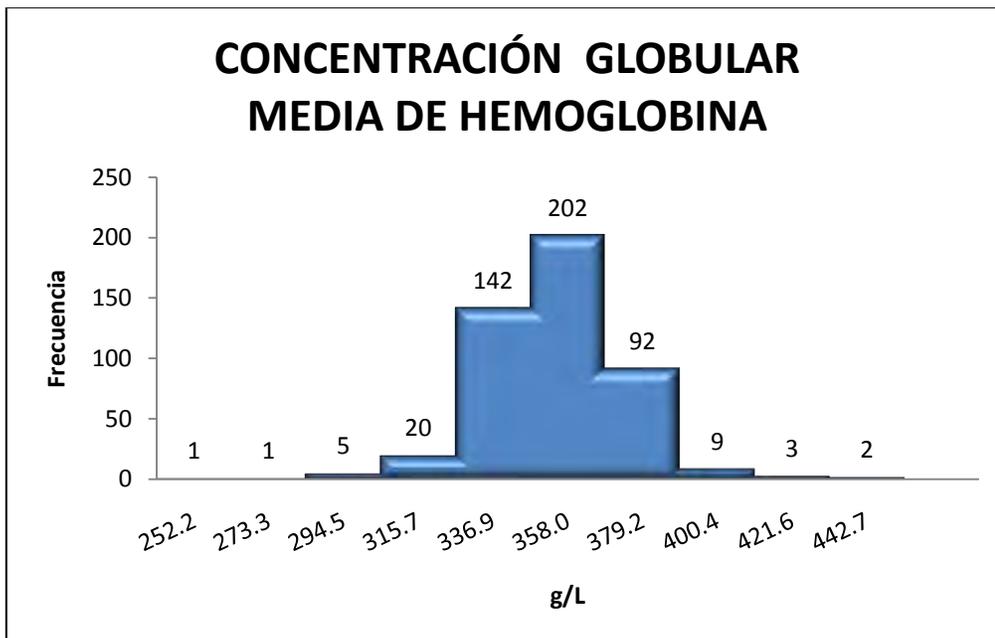
**Figura 4.** Histograma de número de eritrocitos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



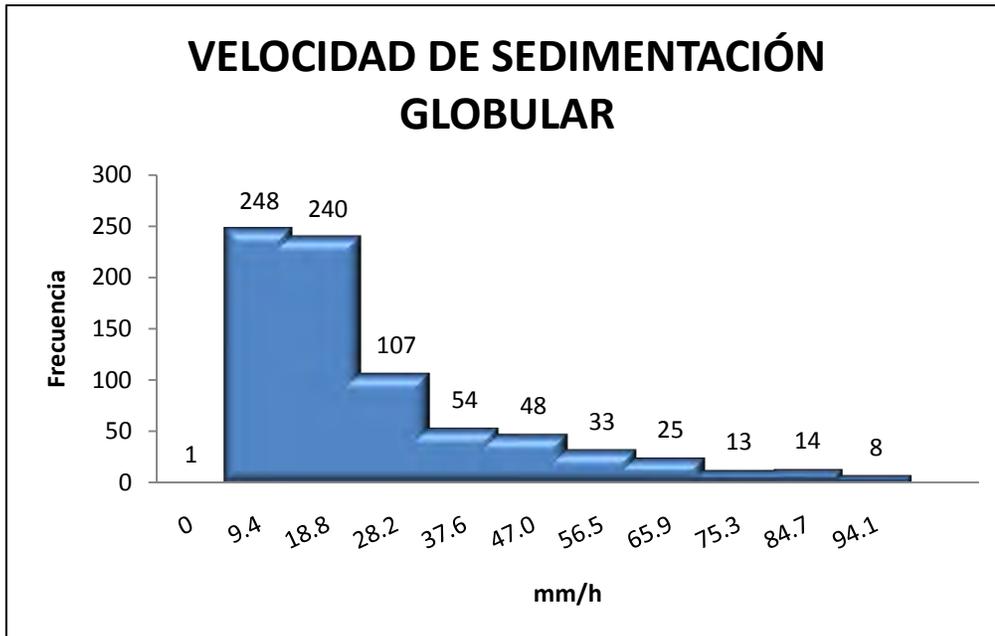
**Figura 5.** Histograma de hemoglobina de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



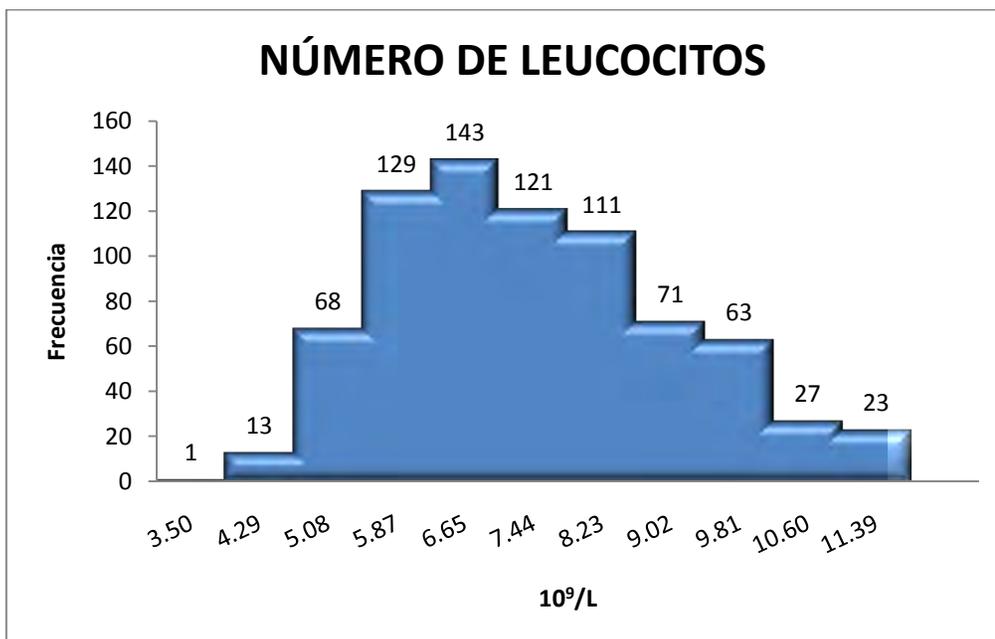
**Figura 6.** Histograma de volumen globular medio de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



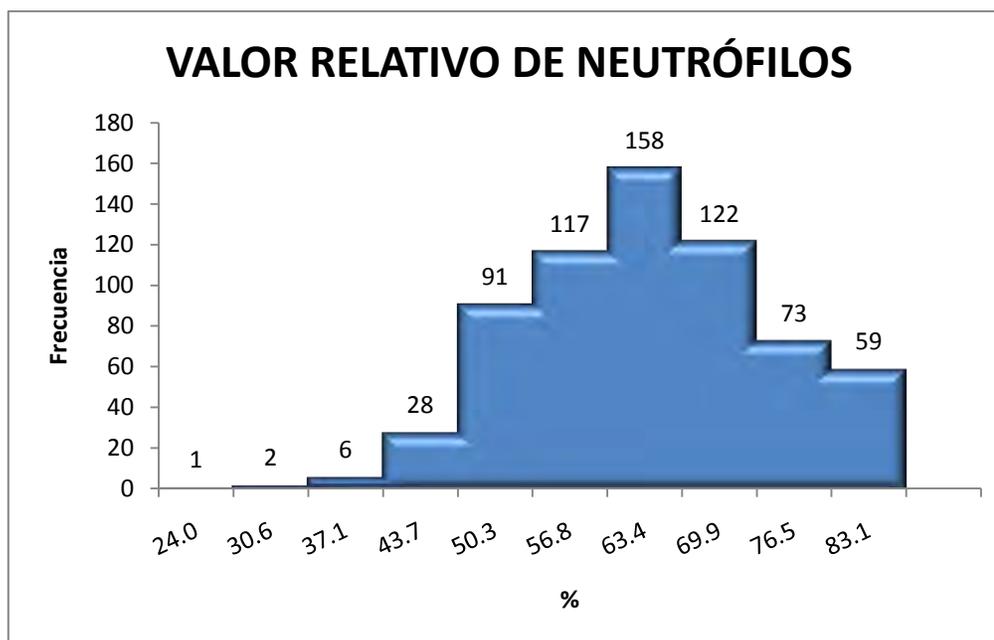
**Figura 7.** Histograma de concentración globular media de hemoglobina de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



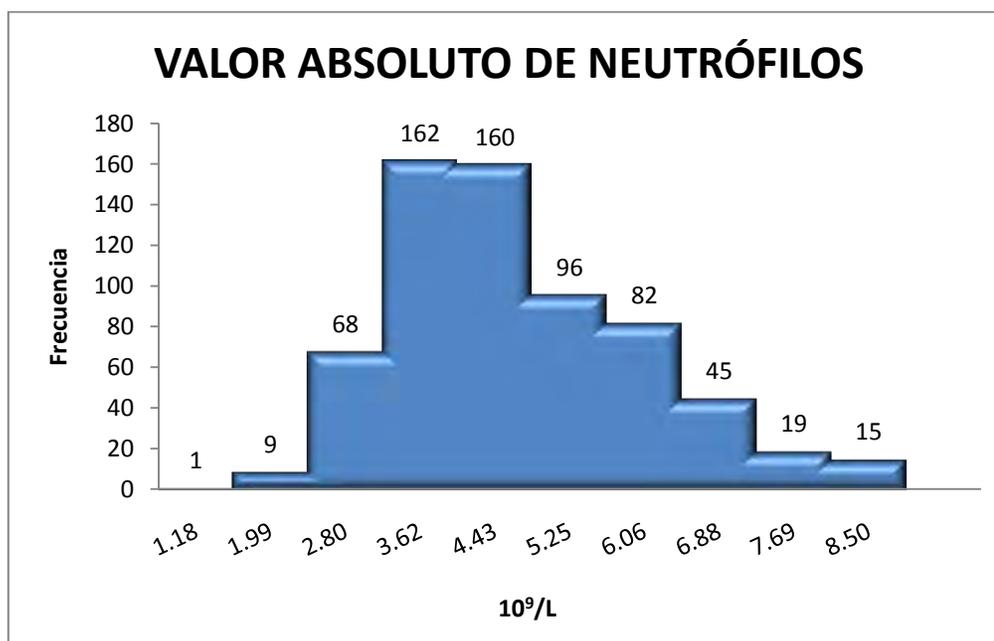
**Figura 8.** Histograma de velocidad de sedimentación globular de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



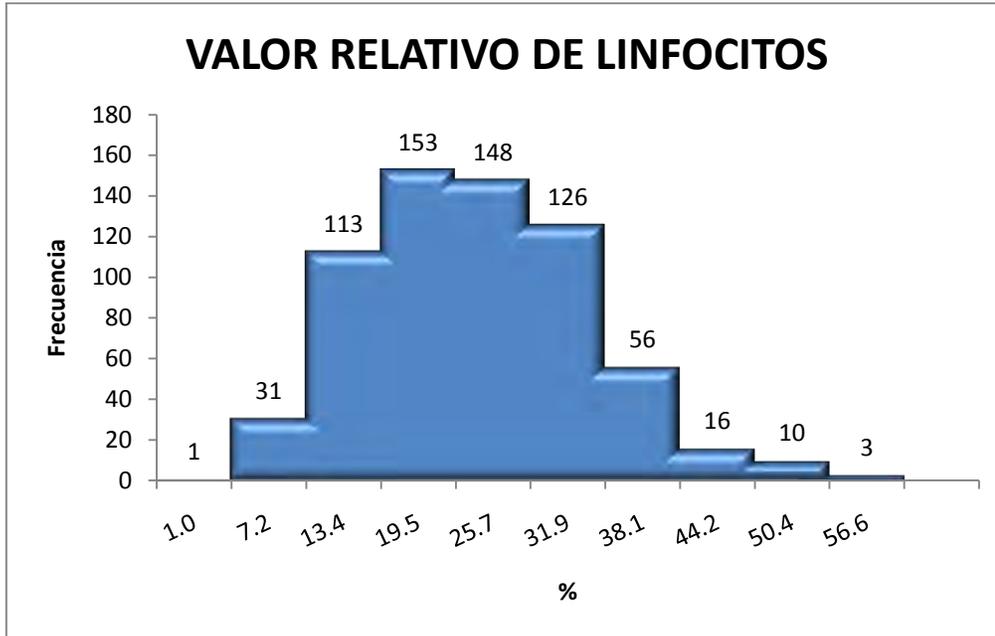
**Figura 9.** Histograma de número de leucocitos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



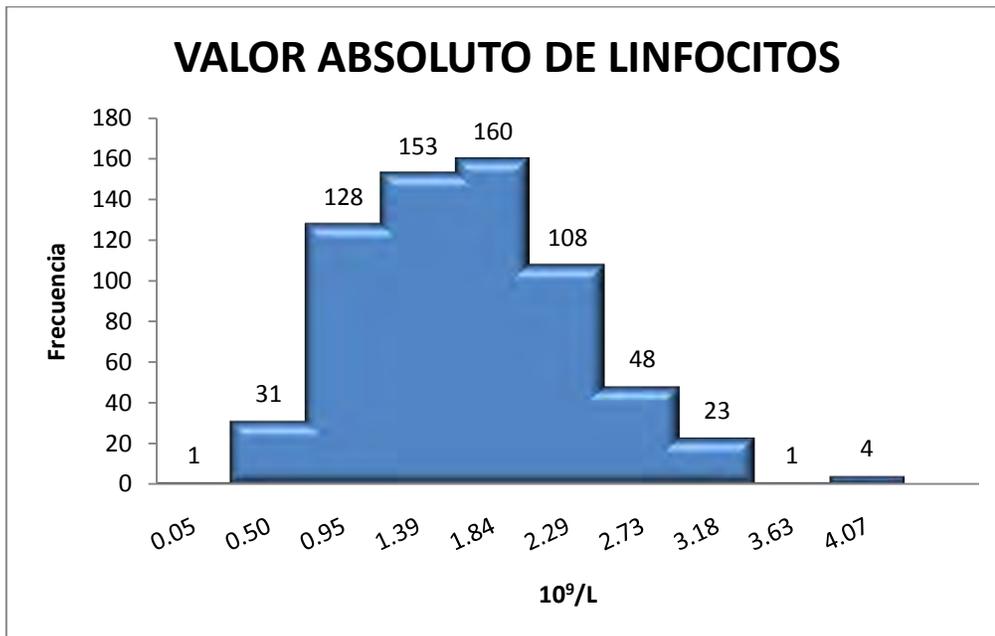
**Figura 10.** Histograma de valor relativo de neutrófilos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



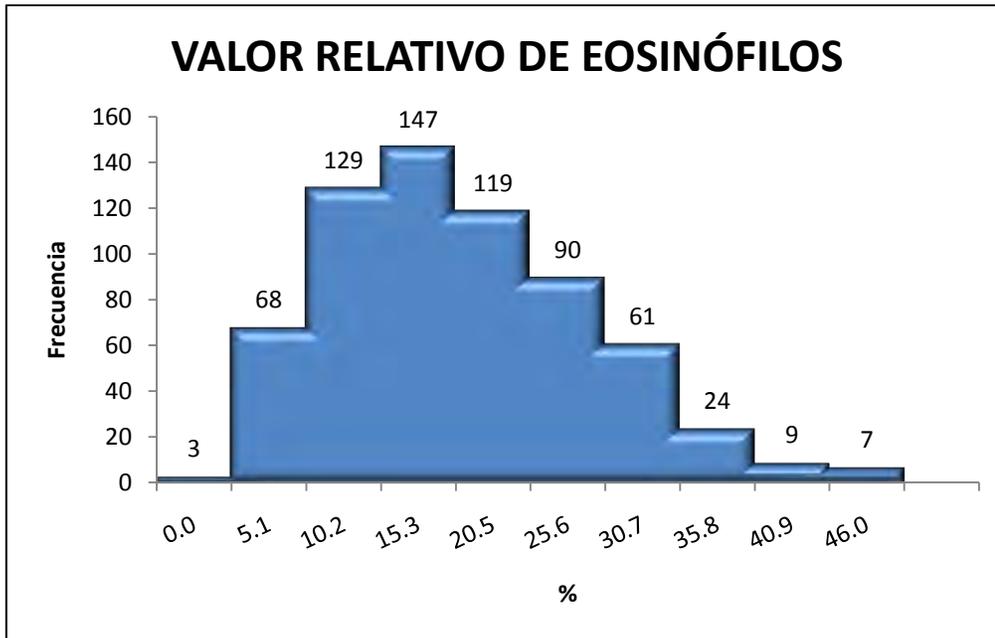
**Figura 11.** Histograma de valor absoluto de neutrófilos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



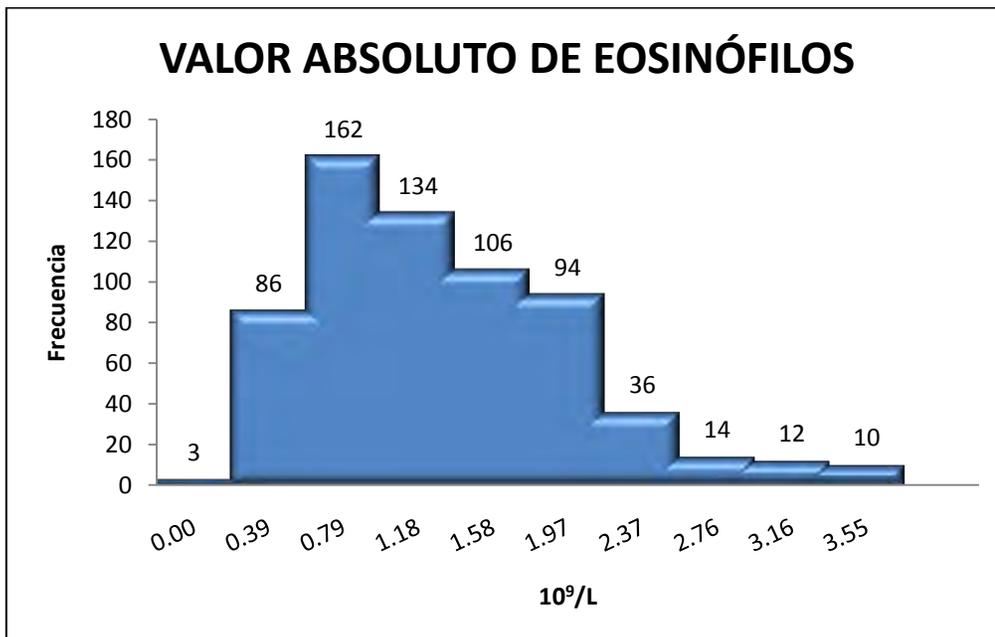
**Figura 12.** Histograma de valor relativo de linfocitos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



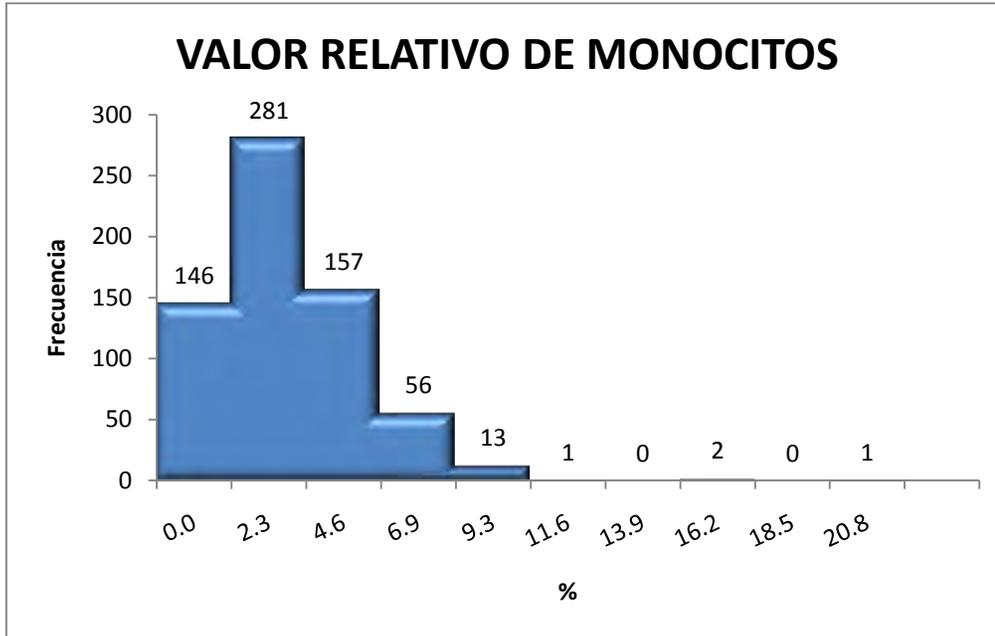
**Figura 13.** Histograma de valor absoluto de linfocitos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



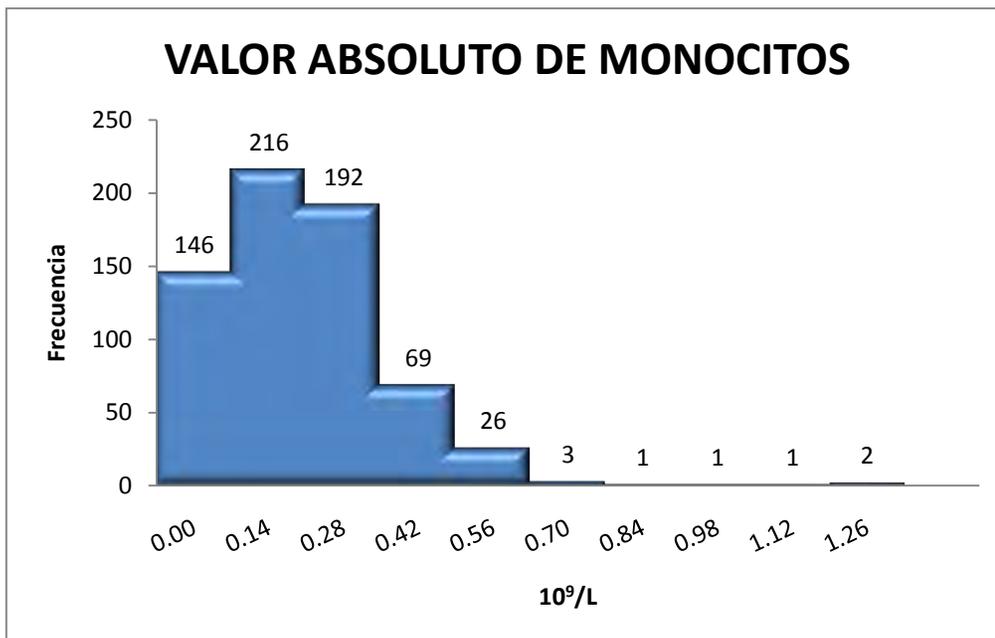
**Figura 14.** Histograma de valor relativo de eosinófilos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



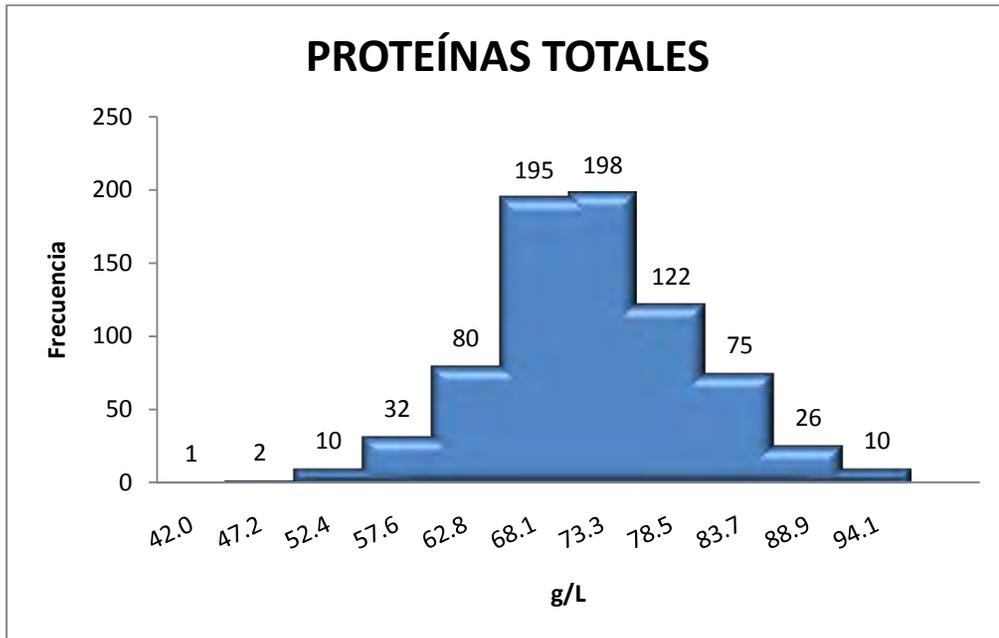
**Figura 15.** Histograma de valor absoluto de eosinófilos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



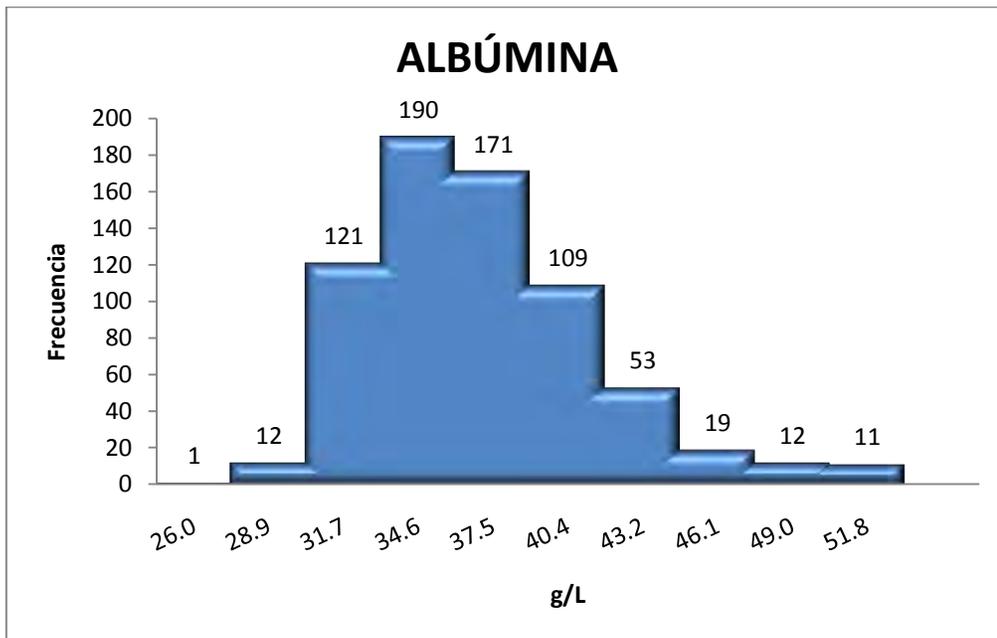
**Figura 16.** Histograma de valor relativo de monocitos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



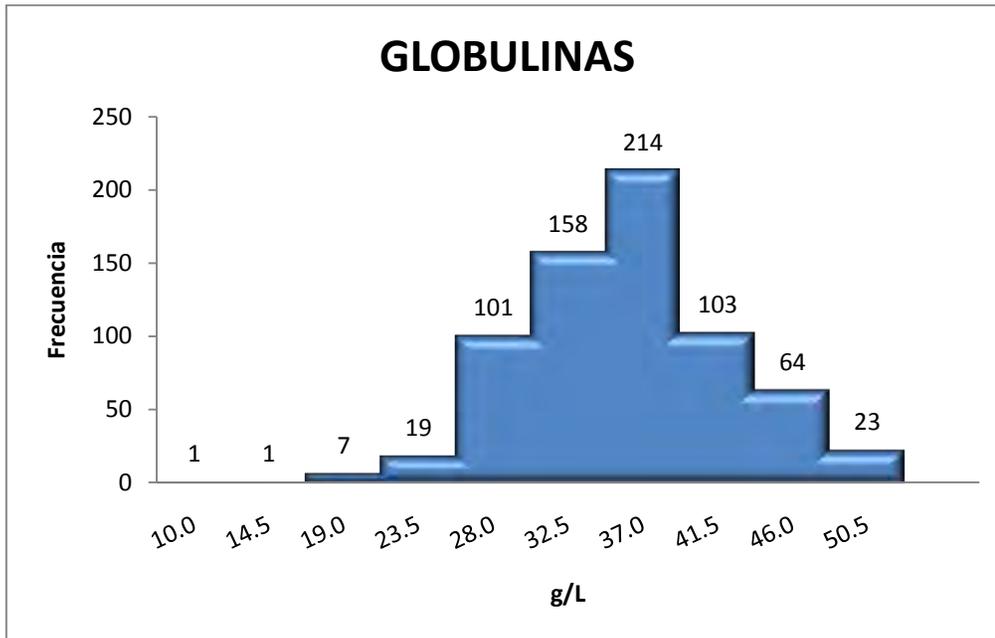
**Figura 17.** Histograma de valor absoluto de monocitos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



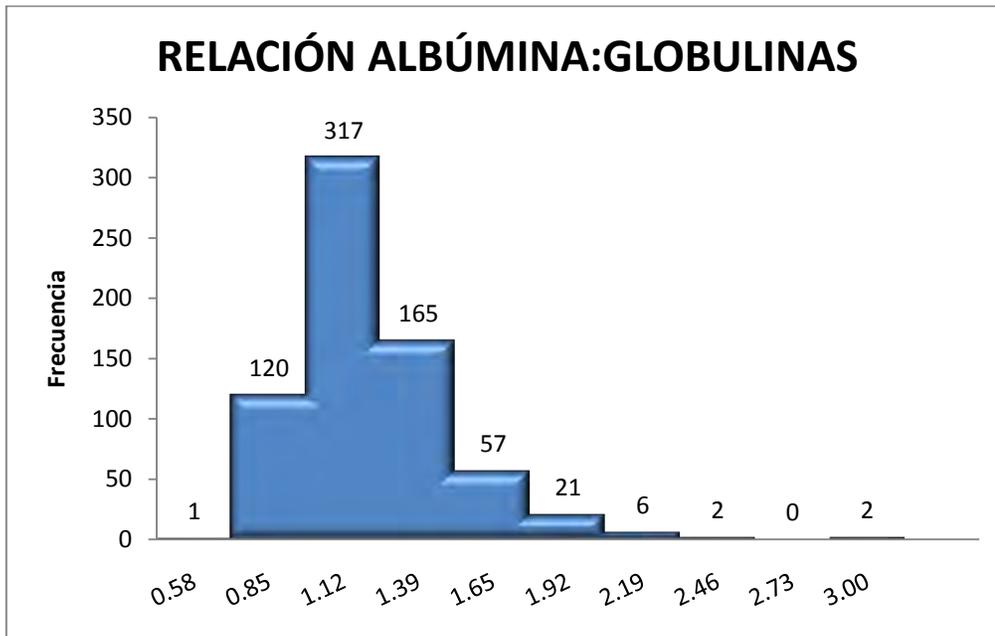
**Figura 18.** Histograma de proteínas totales de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



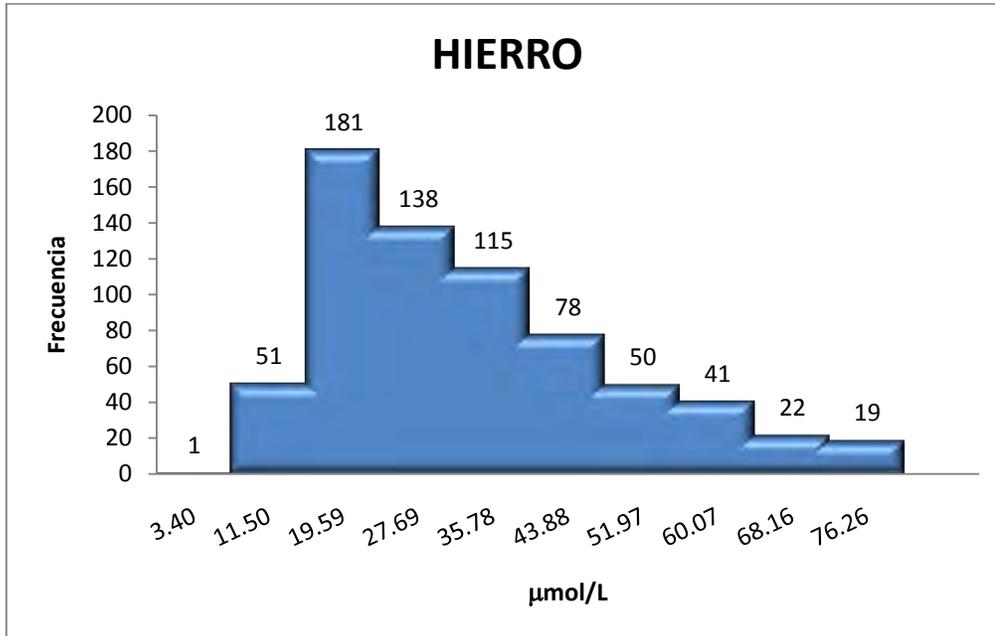
**Figura 19.** Histograma de albúmina de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



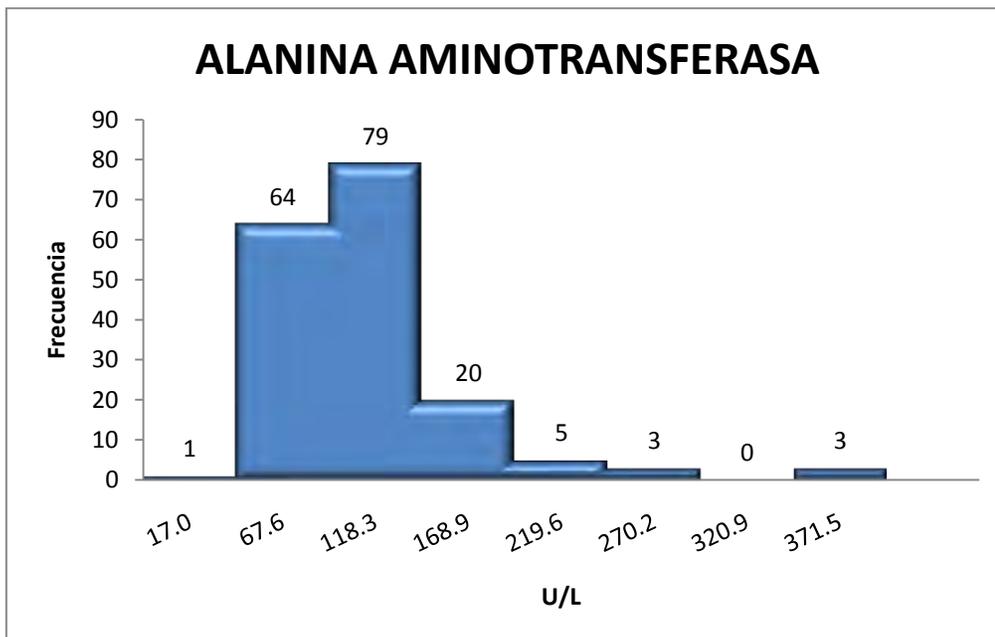
**Figura 20.** Histograma de globulinas de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



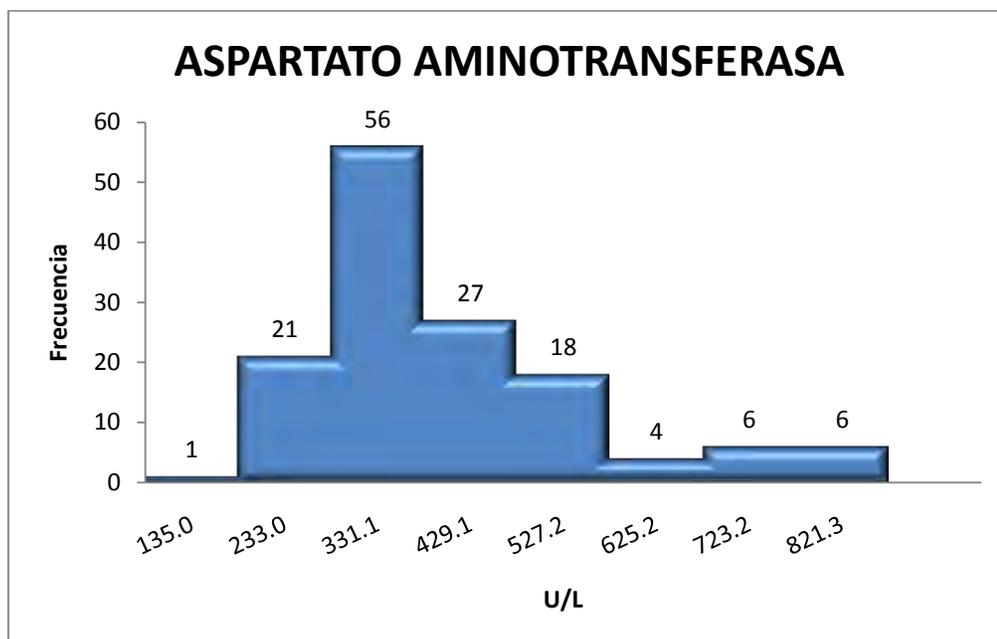
**Figura 21.** Histograma de relación albúmina: globulinas de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



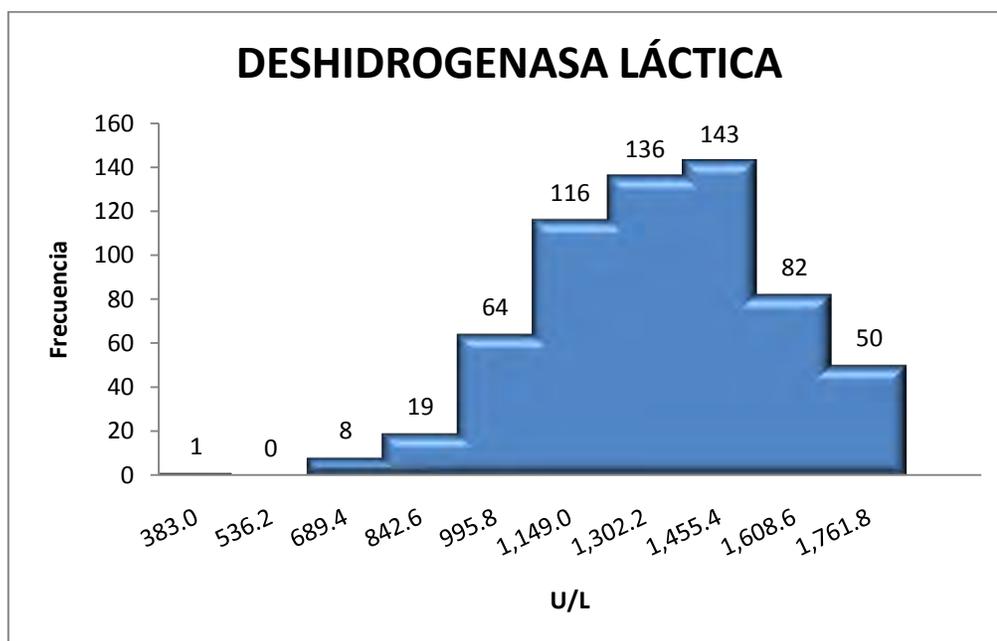
**Figura 22.** Histograma de hierro de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



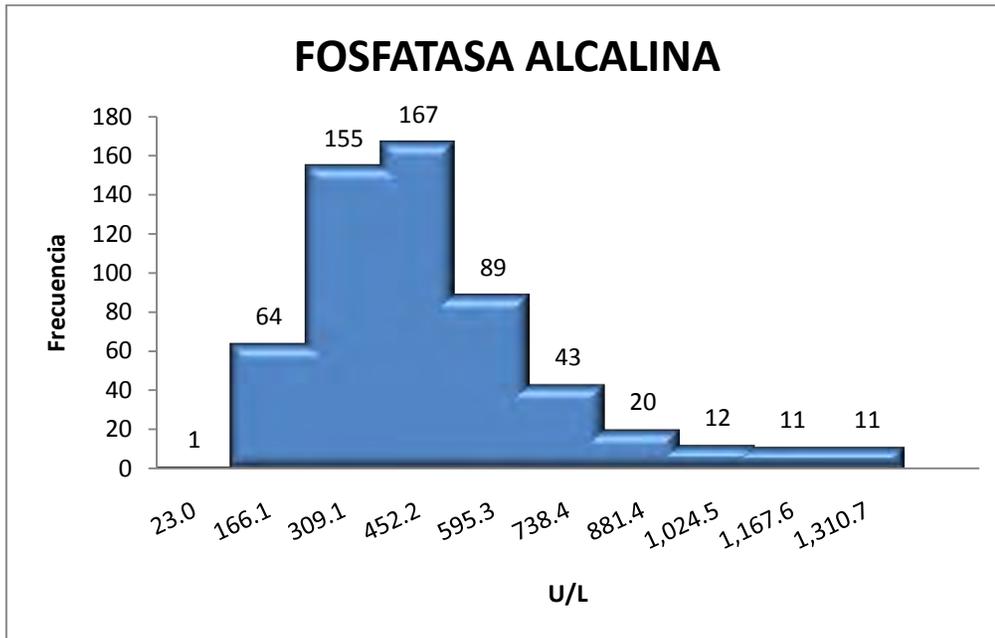
**Figura 23.** Histograma de alanina aminotransferasa de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



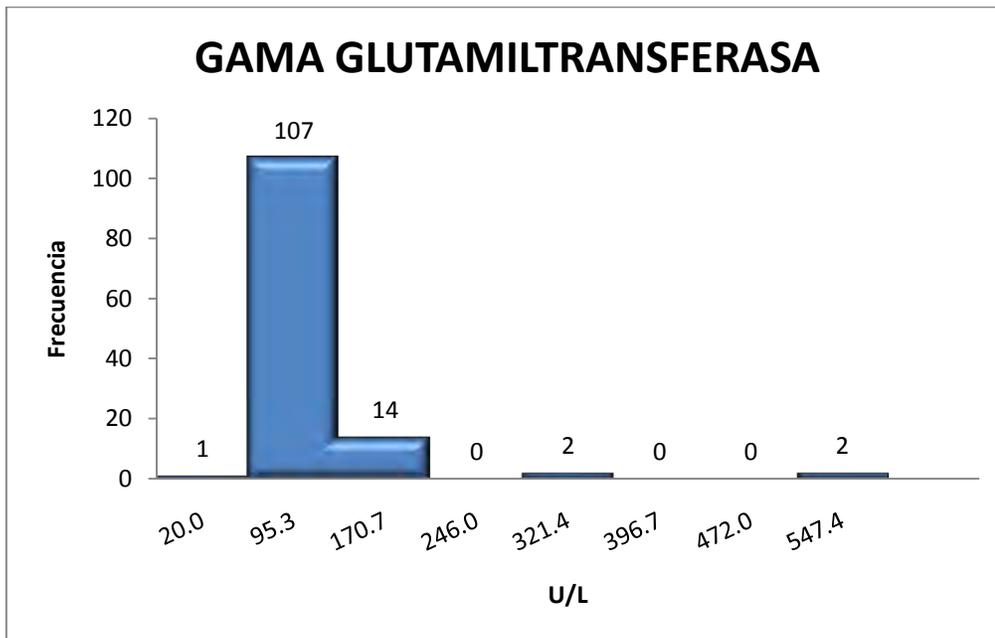
**Figura 24.** Histograma de aspartato aminotransferasa de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



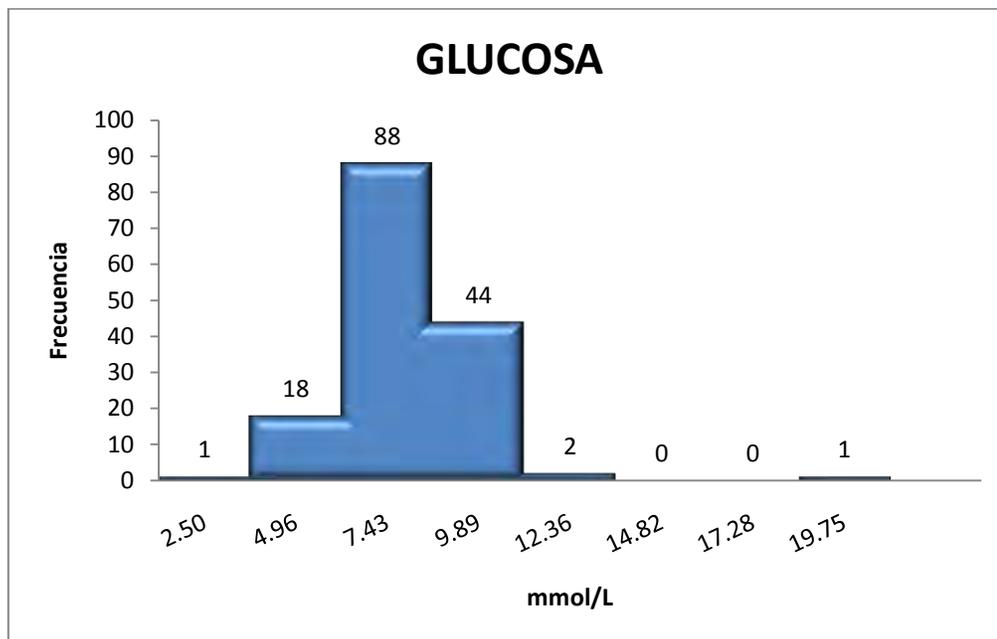
**Figura 25.** Histograma de deshidrogenasa láctica de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



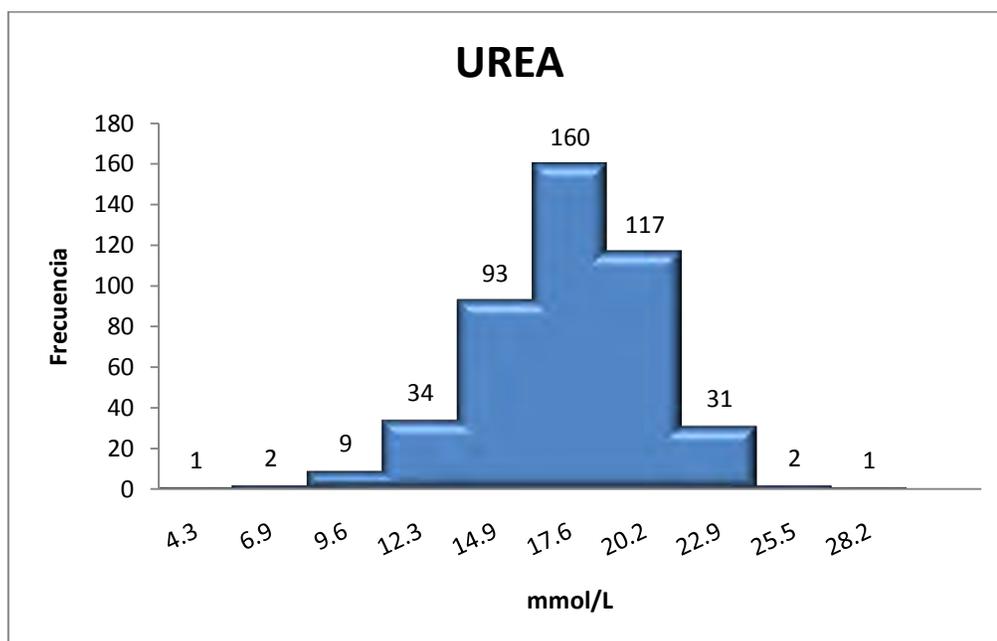
**Figura 26.** Histograma de fosfatasa alcalina de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



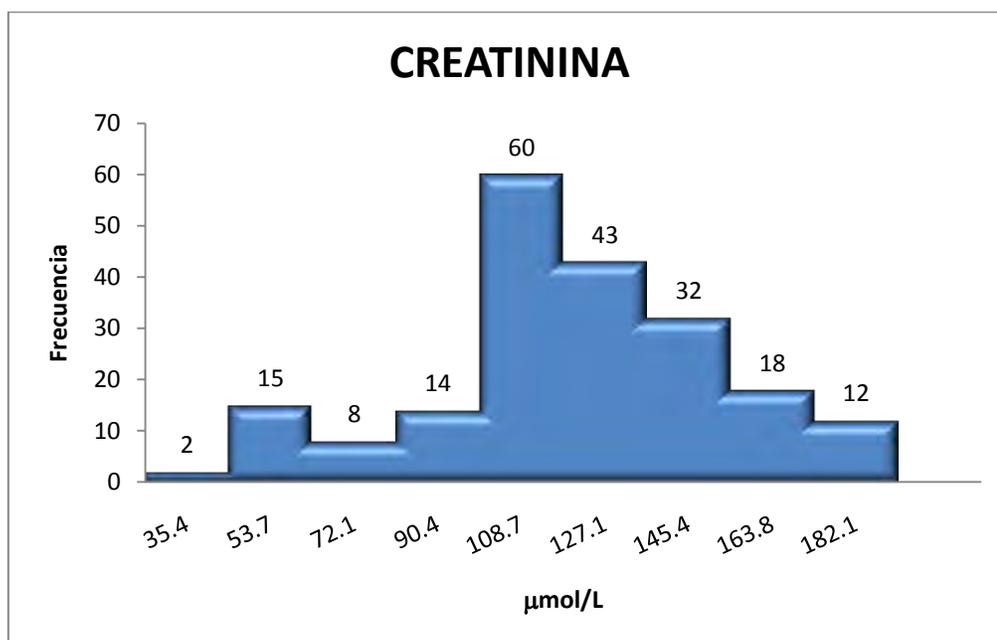
**Figura 27.** Histograma de gama glutamiltransferasa de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



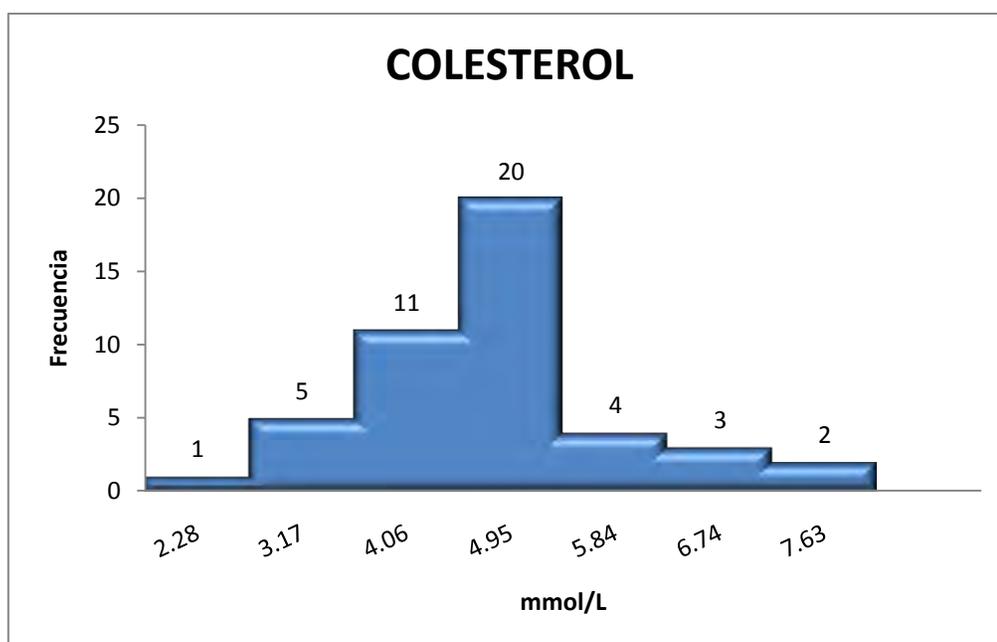
**Figura 28.** Histograma de glucosa de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



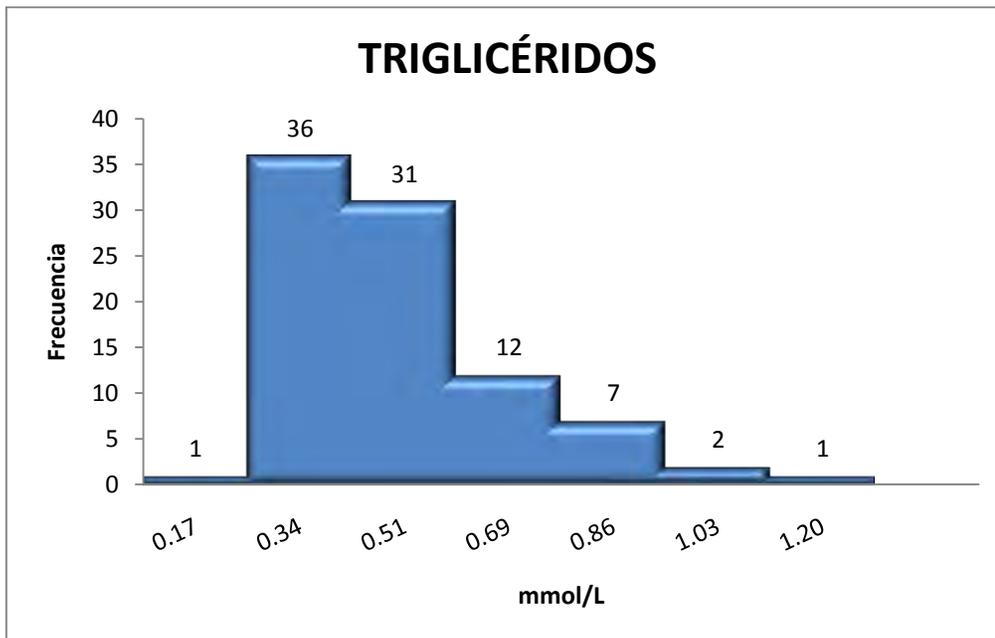
**Figura 29.** Histograma de urea de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



**Figura 30.** Histograma de creatinina de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



**Figura 31.** Histograma de colesterol de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.



**Figura 32.** Histograma de triglicéridos de la población de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.

## CUADROS

ANALITO	PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO
PROTEÍNAS TOTALES	Colorimetría de punto final
ALBÚMINA	Colorimetría de punto final
GLUCOSA	Colorimetría de punto final
UREA	Colorimetría de punto final
COLESTEROL	Colorimetría de punto final
TRIGLICÉRIDOS	Colorimetría de punto final
HIERRO	Colorimetría cinética
ALT*	Colorimetría cinética
AST*	Colorimetría cinética
LDH*	Colorimetría cinética
GGT*	Colorimetría cinética
FA*	Colorimetría cinética
CREATININA	Colorimetría cinética

**Cuadro 1.** Principios de medición de los analitos selectos del perfil bioquímico.

\* ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.

ANALITO	CASOS	MEDIA	DESV. EST.	VARIANZA	CURTOSIS	COEF. ASIMETRÍA
HEMATOCRITO	849	0.40	0.03	0.001	2.31	-0.46
ERITROCITOS	225	3.32	0.28	0.08	-0.25	0.14
HEMOGLOBINA	484	140.81	11.63	135.35	2.20	-1.06
VGM*	225	126.52	9.55	91.30	-0.61	0.001
CGMH*	477	344.41	20.68	427.68	4.21	0.40
VSG*	791	21.03	19.51	380.87	2.02	1.56
LEUCOCITOS	770	7.05	1.66	2.76	-0.48	0.39
NEUTRÓFILOS %	657	60.46	11.20	125.62	-0.14	0.11
NEUTRÓFILOS	657	4.29	1.39	1.94	0.48	0.75
LINFOCITOS %	657	21.37	9.53	90.99	0.76	0.64
LINFOCITOS	657	1.47	0.67	0.45	1.06	0.69
EOSINÓFILOS %	657	15.97	8.92	79.64	0.47	0.67
EOSINÓFILOS	657	1.13	0.71	0.51	1.13	0.97
MONOCITOS %	657	2.18	2.14	4.60	19.06	2.78
MONOCITOS	657	0.15	0.15	0.02	13.50	2.52
PROTEÍNAS TOTALES	751	69.97	8.01	64.21	0.22	0.01
ALBÚMINA	699	35.64	4.64	21.54	1.88	1.09
GLOBULINAS	691	34.01	6.49	42.23	0.61	0.15
REL. A:G*	691	1.09	0.29	0.08	9.68	2.10
HIERRO	696	29.78	16.32	266.44	0.46	0.92
ALT*	175	90.35	56.99	3248.67	3248.67	2.96
AST*	139	364.43	153.96	23705.52	2.39	1.47
LDH*	619	1253.55	243.99	59534.33	-0.13	-0.25
FA*	573	410.50	247.90	61457.06	2.92	1.53
GGT*	126	76.55	78.02	6088.56	37.38	5.74
GLUCOSA	154	6.74	1.91	3.64	32.42	3.92
UREA	450	16.18	3.12	9.73	1.26	-0.33
CREATININA	204	113.44	32.44	1052.59	0.14	-0.03
COLESTEROL	46	4.37	1.19	1.42	1.28	0.62
TRIGLICÉRIDOS	90	0.43	0.21	0.04	5.13	1.72

**Cuadro 3.** Número casos analizados, medidas de tendencia central y de dispersión de los analitos selectos del hemograma y bioquímica de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.

\*VGM: Volumen Globular Medio; CGMH: Concentración Globular Media de Hemoglobina; VSG: Velocidad de Sedimentación Globular; Rel. A:G: Relación Albúmina: Globulinas; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.

ANALITO	HEMBRAS				MACHOS			
	CASOS	MEDIA	DESV. EST.	VARIANZA	CASOS	MEDIA	DESV. EST.	VARIANZA
HEMATOCRITO	462	0.40	0.02	0.0008	387	0.40	0.03	0.001
ERITROCITOS	109	3.26	0.32	0.1	116	3.36	0.23	0.05
HEMOGLOBINA	233	141.59	11.28	127.38	251	140.08	11.92	142.20
VGM*	109	128.23	10.44	109.08	116	124.92	8.36	70.02
CGMH*	230	347.25	19.33	373.91	247	341.76	21.56	464.90
VSG*	418	23.83	19.61	384.88	373	17.90	18.94	358.79
LEUCOCITOS	416	6.85	1.55	2.43	354	7.28	1.74	3.04
NEUTRÓFILOS %	356	59.94	11.43	130.71	301	61.07	10.92	119.32
NEUTRÓFILOS	356	4.13	1.35	1.83	301	4.47	1.41	2.01
LINFOCITOS %	356	21.84	9.61	92.50	301	20.82	9.43	88.94
LINFOCITOS	356	1.45	0.64	0.41	301	1.50	0.71	0.51
EOSINÓFILOS %	356	15.87	9.43	88.95	301	16.09	8.29	68.86
EOSINÓFILOS	356	1.09	0.74	0.55	301	1.18	0.67	0.45
MONOCITOS %	356	2.33	2.07	4.29	301	2.00	2.22	4.93
MONOCITOS	356	0.15	0.14	0.02	301	0.14	0.16	0.02
PROTEÍNAS TOTALES	397	70.19	8.01	64.25	354	69.72	8.01	64.23
ALBÚMINA	373	36.0	5.2	27.20	326	35.12	3.82	14.62
GLOBULINAS	368	33.81	6.08	37.06	323	34.23	6.94	48.16
REL. A:G*	368	1.11	0.30	1.09	323	1.07	0.28	0.08
HIERRO	364	35.41	17.19	295.50	332	23.61	12.63	162.25
ALT*	89	93.4	55.06	3032.32	86	87.10	59.07	3489.88
AST*	72	362.47	108.88	32717.66	67	366.53	119.83	14361.13
LDH*	333	1229.1	256.58	60804.96	286	1281.9	238.23	56756
FA*	299	365.89	326.37	51246.85	274	459.17	261.28	68270.45
GGT*	63	87.96	100.44	10088.54	63	65.14	43.84	1922.09
GLUCOSA	85	6.93	2.25	5.10	69	6.51	1.34	1.80
UREA	224	15.56	3.40	11.61	226	16.80	2.67	7.16
CREATININA	105	111.04	32.82	1077.39	99	115.99	32.00	1024.30
COLESTEROL	20	4.53	1.19	1.41	26	4.25	1.20	1.45
TRIGLICÉRIDOS	57	0.46	0.23	0.05	33	0.38	0.15	0.02

**Cuadro 4.** Número casos analizados, medidas de tendencia central y de dispersión de los analitos selectos del hemograma y bioquímica de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya de la categoría de sexos.

\*VGM: Volumen Globular Medio; CGMH: Concentración Globular Media de Hemoglobina; VSG: Velocidad de Sedimentación Globular; Rel. A:G: Relación Albúmina: Globulinas; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.

ANALITO	CRÍAS				JUVENILES			
	CASOS	MEDIA	DESV. EST.	VARIANZA	CASOS	MEDIA	DESV. EST.	VARIANZA
HEMATOCRITO	47	0.38	0.45	0.002	194	0.41	0.02	0.0008
ERITROCITOS	9	3.44	0.18	0.03	47	3.45	0.23	0.05
HEMOGLOBINA	38	125.05	19.79	391.83	102	143.02	9.62	92.65
VGM*	9	118.05	2.97	8.85	47	123.34	6.88	47.45
CGMH*	36	337.10	21.83	476.92	101	342.81	16.96	287.70
VSG*	43	27.94	20.35	414.46	180	19.01	20.51	420.75
LEUCOCITOS	35	7.36	2.30	5.33	180	6.95	1.58	2.50
NEUTRÓFILOS %	31	66.81	13.86	192.36	146	62.77	11.28	127.46
NEUTRÓFILOS	31	5.09	2.19	4.80	146	4.34	1.31	1.72
LINFOCITOS %	31	22.77	11.69	136.71	146	21.17	9.82	96.57
LINFOCITOS	31	1.65	0.94	0.88	146	1.42	0.63	0.39
EOSINÓFILOS %	31	8.42	7.39	54.71	146	13.58	8.72	76.05
EOSINÓFILOS	31	0.55	0.47	0.22	146	0.95	0.68	0.46
MONOCITOS %	31	2.00	1.86	3.46	146	2.48	2.67	7.17
MONOCITOS	31	0.14	0.15	0.02	146	0.17	0.18	0.03
PROTEÍNAS TOTALES	45	59.92	7.87	62.02	147	68.31	6.79	46.13
ALBÚMINA	35	35.24	5.46	29.86	162	35.49	4.62	21.43
GLOBULINAS	38	25.05	5.64	31.88	160	32.81	5.65	31.93
REL. A:G*	38	1.48	0.44	0.19	160	1.12	0.26	0.06
HIERRO	38	35.65	23.87	570.20	157	28.33	13.68	187.20
ALT*	28	58.25	35.64	1270.34	26	104.65	61.77	3815.75
AST*	14	197.07	42.71	1824.22	21	360.29	127.70	16308.41
LDH*	27	1227.1	215.15	46292.33	155	1273.5	234.31	54902.97
FA*	32	817.84	399.07	159257.55	134	497.41	244.55	59808.27
GGT*	17	68.94	26.78	717.68	17	139.41	196.29	38533.25
GLUCOSA	21	6.96	1.064	1.13	35	6.77	1.52	2.32
UREA	29	16.80	3.50	12.30	95	16.37	3.15	9.96
CREATININA	26	62.56	25.97	674.69	32	119.89	21.87	478.64
COLESTEROL	1	4.09	0	0	7	5.34	0.68	0.47
TRIGLICÉRIDOS	21	0.60	0.25	0.06	8	0.29	0.07	0.006

**Cuadro 5.** Número casos analizados, medidas de tendencia central y de dispersión de los analitos selectos del hemograma y bioquímica de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya de la categoría de edades.

\*VGM: Volumen Globular Medio; CGMH: Concentración Globular Media de Hemoglobina; VSG: Velocidad de Sedimentación Globular; Rel. A:G: Relación Albúmina: Globulinas; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.

ANALITO	ADULTOS			
	CASOS	MEDIA	DESV. EST.	VARIANZA
HEMATOCRITO	608	0.40	0.02	0.007
ERITROCITOS	169	3.28	0.29	0.08
HEMOGLOBINA	344	141.90	9.53	90.90
VGM*	169	127.87	9.99	99.81
CGMH*	340	345.66	21.41	458.42
VSG*	568	21.16	19.03	362.23
LEUCOCITOS	555	7.07	1.63	2.68
NEUTRÓFILOS %	480	59.35	10.76	115.94
NEUTRÓFILOS	480	4.23	1.33	1.79
LINFOCITOS %	480	21.35	9.31	86.67
LINFOCITOS	480	1.48	0.66	0.44
EOSINÓFILOS %	480	17.20	8.70	75.69
EOSINÓFILOS	480	1.23	0.70	0.50
MONOCITOS %	480	2.10	1.97	3.88
MONOCITOS	480	0.15	0.14	0.02
PROTEÍNAS TOTALES	553	71.37	7.62	58.07
ALBÚMINA	499	35.73	4.58	21.02
GLOBULINAS	493	35.09	6.21	38.67
REL. A:G*	493	1.06	0.27	0.07
HIERRO	501	29.80	16.32	266.47
ALT*	121	94.71	57.67	3325.87
AST*	104	387.80	154.92	24001.96
LDH*	437	1248.1	249.03	62017.49
FA*	407	349.86	188.61	35575.59
GGT*	92	66.35	24.65	607.89
GLUCOSA	98	6.70	2.16	4.69
UREA	326	16.08	3.07	9.45
CREATININA	146	121.10	26.88	722.57
COLESTEROL	38	4.21	1.20	1.44
TRIGLICÉRIDOS	61	0.40	0.17	0.03

**Cuadro 5.** Número casos analizados, medidas de tendencia central y de dispersión de los analitos selectos del hemograma y bioquímica de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya de la categoría de edades. (Continuación)

\*VGM: Volumen Globular Medio; CGMH: Concentración Globular Media de Hemoglobina; VSG: Velocidad de Sedimentación Globular; Rel. A:G: Relación Albúmina: Globulinas; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.

ANALITO	UNIDAD	VALORES DE REFERENCIA
ERITROCITOS	$10^{12}/L$	2.74 - 3.89
HEMATOCRITO	L/L	0.34 - 0.46
HEMOGLOBINA	g/L	110 - 159
VGM*	fL	109 - 143
CGMH*	g/L	306 - 380
VSG*	mm/h	2 - 80
LEUCOCITOS	$10^9/L$	3.7 - 10.3
NEUTRÓFILOS	%	38 - 82
NEUTRÓFILOS ABSOLUTO	$10^9/L$	2.1 - 7.5
LINFOCITOS	%	6 - 42
LINFOCITOS ABSOLUTO	$10^9/L$	0.3 - 2.9
MONOCITOS	%	0 - 6
MONOCITOS ABSOLUTO	$10^9/L$	0 - 0.5
EOSINÓFILOS	%	2 - 35
EOSINOFILOS ABSOLUTO	$10^9/L$	0.1 - 2.9
PROTEÍNAS TOTALES	g/L	53.9 - 86.0
ALBÚMINA	g/L	29.0 - 48.0
GLOBULINAS	g/L	22.0 - 47.0
RELACIÓN A:G*		0.75 - 1.78
GLUCOSA	mmol/L	4.2 - 9.2
UREA	mmol/L	9.4 - 21.3
CREATININA	$\mu\text{mol}/L$	48 - 178
FOSFATASA ALCALINA	U/L	111 - 1120
ALT*	U/L	28 - 242
AST*	U/L	161 - 810
GGT*	U/L	29 - 256
LDH*	U/L	765 - 1741
COLESTEROL	mmol/L	2.38 - 6.80
TRIGLICÉRIDOS	mmol/L	0.18 - 0.89
HIERRO	$\mu\text{mol}/L$	7.9 - 68.8

**Cuadro 6.** Valores de referencia de la tonina (*Tursiops truncatus*) mantenida en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.

\*VGM: Volumen Globular Medio; CGMH: Concentración Globular Media de Hemoglobina; VSG: Velocidad de Sedimentación Globular; Rel. A:G: Relación Albúmina: Globulinas; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.

ANALITO	SEXOS	EDADES
ERITROCITOS	<0.01	<0.01
HEMATOCRITO		<0.01
HEMOGLOBINA		<0.05
VGM*	<0.01	<0.01
CGMH*	<0.01	<0.05
VSG*	<0.01	<0.05
LEUCOCITOS	<0.01	
NEUTRÓFILOS	<0.01	<0.01
NEUTRÓFILOS ABSOLUTO		<0.01
LINFOCITOS		
LINFOCITOS ABSOLUTO		
MONOCITOS		
MONOCITOS ABSOLUTO		
EOSINÓFILOS		<0.01
EOSINOFILOS ABSOLUTO		<0.01
PROTEÍNAS TOTALES		<0.01
ALBÚMINA	<0.01	
GLOBULINAS		<0.01
RELACIÓN A:G*		<0.01
GLUCOSA		
UREA	<0.01	
CREATININA		<0.01
FOSFATASA ALCALINA	<0.01	<0.01
ALT*		<0.01
AST*		<0.01
GGT*		<0.01
LDH*	<0.01	
COLESTEROL		
TRIGLICÉRIDOS		<0.01
HIERRO	<0.01	<0.05

**Cuadro 7.** Niveles de significancia a los que se encontraron diferencias significativas entre los grupos de sexo y edad de toninas (*Tursiops truncatus*) mantenidas en áreas naturales delimitadas en la Riviera Maya.

\*VGM: Volumen Globular Medio; CGMH: Concentración Globular Media de Hemoglobina; VSG: Velocidad de Sedimentación Globular; Rel. A:G: Relación Albúmina: Globulinas; ALT: Alanina Aminotransferasa; AST: Aspartato Aminotransferasa; LDH: Deshidrogenasa Láctica; FA: Fosfatasa Alcalina.