



Análisis de los parámetros leucocitarios de crías de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*), nacidas en el Archipiélago de San Benito entre los años 2016 y 2023

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciado en Biología

Presenta:

Ana Karolina Gómez Noriega

Dirigida por:

Dra. Karina Alethya Acevedo Whitehouse

SINODALES

Dra. Karina Alethya Acevedo Whitehouse
Directora

Dr. Fausto Arellano Carbajal
Sinodal

Dr. Félix Leao Rodríguez Fierros
Sinodal

Dra. Mónica Elisa Queijeiro Bolaños
Sinodal

Dra. Fabiola Guerrero de la Rosa
Sinodal

Dr. José Guadalupe Gómez Soto
Director de la Facultad de Ciencias
Naturales

Dr. Israel Gustavo Carrillo Ángeles
Coordinador de la Licenciatura en Biología



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Análisis de los parámetros leucocitarios de crías de
elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*),
nacidas en el Archipiélago de San Benito entre los
años 2016 y 2023

por

Ana Karolina Gómez Noriega

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: CNLIC-267465

RESUMEN

Los parámetros leucocitarios son una herramienta útil para conocer la salud de una población ya que las anomalías pueden mostrar fenómenos de inflamación, infección u otros trastornos. En este estudio se compararon 16 parámetros inmunes en relación con el año de muestreo, sexo, condición corporal y medidas morfométricas de crías recién destetadas de elefante marino del Norte nacidas en el archipiélago de San Benito entre 2016 y 2023. Para ello se analizaron frotis sanguíneos y se realizó un estimado de leucocitos totales. Para el análisis de los datos se realizaron pruebas de chi cuadrada y se evaluó la significancia de los resultados. Se encontraron diferencias significativas en leucocitos totales, monocitos, neutrófilos linfocitos e índice clínico conforme al año de muestreo. Para las medidas morfométricas hubo variación significativa en monocitos, eosinófilos, basófilos, neutrófilos e índice clínico. La condición corporal fue relevante para leucocitos totales, neutrófilos, monocitos basófilos y linfocitos. No se encontraron diferencias significativas con respecto al sexo de las crías.

PALABRAS CLAVES

Parámetros leucocitarios, crías de elefante marino de Norte, leucograma, células inmunes

SUMMARY

Leukocyte parameters are a useful tool for understanding the health of a population, anomalies can be indicators of inflammation, disease, and other related disorders. In this study, 16 immune parameters were compared across sampling years, sexes, and in relation to body condition and morphometric measurements of weaned Northern elephant seal pups born at San Benito Archipelago between 2016 and 2023. Blood smears were analyzed, and an estimate of total leukocytes was performed. Chi-square tests were conducted for data analysis, and the significance of the results was evaluated. Significant differences were found in total leukocytes, monocytes, neutrophils, lymphocytes, and clinical index according to the sampling year. Morphometric measurements showed significant variation in monocytes, eosinophils, basophils, neutrophils, and clinical index. Body condition was relevant for total leukocytes, neutrophils, monocytes, basophils, and lymphocytes. No significant differences were found regarding the sex of the pups.

KEYWORDS

Leukocyte parameters, Northern elephant seal pups, leukogram, immune cells

AGRADECIMIENTOS

Tuvieron que pasar 3800 millones de años para que mi piel se erizara al caminar por ese mágico archipiélago, para que mi corazón vibrara al ver un mar rebosante de pinnípedos.

Nacieron, se diversificaron y murieron miles de linajes para que azarosa y misteriosamente hoy me acompañe mi cariñosa familia, mis maravillosos amigos y mis sabios maestros.

Extinción, radiación, selección, color, depredación, mimetismo, dispersión, cortejo, infección, respiración, metabolismo, polinización, transformación, impacto, rotación, radiación, absorción, millones de vueltas al sol, intensidad, adsorción, existencia, sensación, evolución...

Nacimiento, aventura, emoción, alegría, retos, caminos, decisiones, pasión, miedo, determinación, cansancio, desesperación, ilusión, esperanza, aprendizaje, compromiso, rendición, inspiración, pensamiento, confusión, creación...

Y ahora logré escribir esta tesis...

¡Gracias a la vida!

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Declaro que el trabajo que se presenta en esta tesis fue realizado por mí, a excepción de aquellas secciones que formaron parte de colaboraciones, mismas que se indican explícitamente en el texto.

Confirmando que las ideas originales aquí presentadas son de mi autoría y que a lo largo de la tesis le he dado crédito al trabajo de otros mediante el uso adecuado de las referencias.

Esta copia se ha sometido a la Universidad Autónoma de Querétaro bajo el entendido de que constituye material con derechos de autor y que no puede citarse ningún pasaje de esta tesis sin darle el crédito adecuado.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
SUMMARY	2
AGRADECIMIENTOS	3
DECLARATORIA DE AUTORÍA.....	4
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVO GENERAL	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
HIPÓTESIS.....	12
ANTECEDENTES.....	13
1. Sistema inmunológico	13
1.1 Respuesta innata	13
1.2 Respuesta adaptativa.....	14
2. Ontogenia del sistema circulatorio	15
2.1 Hematopoyesis.....	15
2.2 Maduración de línea linfoide	17
2.3 Maduración de línea mieloide	19
3. Sistema inmunológico en lactantes	20
4. Hematología	22
5. Elefante marino del Norte	24
5.1 Taxonomía	24
5.2 Distribución.....	25
5.3 Historia de vida	25
5.4 Alimentación	28
5.5 Estado de conservación	28
5.6 Hematología clínica	29
6. Cambios ambientales en los ecosistemas marinos	29
6.1 Temperatura	30
6.2 Oxigenación	32
6.3 Contaminantes.....	34
6.4 Red trófica.....	35
MATERIALES Y MÉTODO	37
1. Sitio de muestreo	37

2. Toma de muestras	38
3. Conteos leucocitarios	39
3.1 Conteos diferenciales	39
3.2 Conteo de leucocitos totales	41
4. Índice clínico	42
5. Análisis estadísticos.....	42
RESULTADOS.....	43
1. Distribución de los datos	43
2. Resumen de parámetros leucocitarios esperados según (Gulland et al., 2018) y parámetros obtenidos en esta tesis.....	45
3. Variación interanual en los parámetros leucocitarios	46
4. Diferencias en los parámetros leucocitarios entre sexos	48
5. Medidas morfológicas	49
5.1 Longitud total	49
5.2 Diámetro umbilical	49
5.3 Efecto de la condición corporal en los parámetros leucocitarios	50
DISCUSIÓN	53
1. Variación interanual en los parámetros leucocitarios	53
1.1 Índice clínico	53
1.2 Conteo leucocitario	55
1.3 Monocitos	57
1.4 Neutrófilos inmaduros.....	58
1.5 Linfocitos	59
1.6 Variación inter-sexo en los parámetros leucocitarios de las crías.....	59
1.8 Medidas morfológicas de los animales	60
1.9 Condición corporal de las crías	63
CONCLUSIONES.....	67
REFERENCIAS.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Leucocitos en sangre: descripción y función.....	17
Cuadro 2: Parámetros leucocitarios de referencia para <i>M. angustirostris</i>	30
Cuadro 3: Muestras analizadas	42
Cuadro 4: Resumen de parámetros leucocitarios obtenidos	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Desarrollo de linajes sanguíneos.....	17
Figura2: Estructura de un anticuerpo.....	16
Figura 3: Fuentes de nitrógeno y fosforo de origen antrópico.....	34
Figura 4: Mapa de las islas volcánicas que conforman el archipiélago de San Benito.....	37
Figura 5: Partes de un frotis sanguíneo	39
Figura 6: Dirección de escaneo para conteos diferenciales	40
Figura 7: Distribución de variables con distribución log normal	43
Figura 8: Distribución de variables con distribución tipo beta.....	44
Figura 9: Distribución de parámetros clínicos	45
Figura 10: Variación interanual (2016 a 2023) en parámetros leucocitarios e índice clínico de los cachorros de elefante marino del Norte	47
Figura 11: . Variación anual del índice clínico considerando el sexo de las crías entre los años 2016-2023	48
Figura 12: Variación de leucocitos con respecto a la longitud total de las crías del elefante marino del Norte	49
Figura 13: Variación de parámetros leucocitarios en relación al diámetro umbilical de los cachorros de elefante marino del Norte	50
Figura 14: Variación de parámetros leucocitarios en relación con la condición corporal de los cachorros de elefante marino del Norte	51

INTRODUCCIÓN

El sistema inmune es un conjunto de células y moléculas que actúan de forma coordinada y que permiten la defensa o tolerancia de un organismo luego del reconocimiento de agentes ajenos, así como la reparación, limpieza y mantenimiento de la homeostasis en los tejidos, además de estar involucrado en procesos de desarrollo (Pradeu, 2019). En los vertebrados gnatostomados ocurren dos tipos de respuestas: la innata, presente en todos los animales y la adaptativa que es única para el grupo antes mencionado (Nelson & Demas, 2012). En la respuesta innata están involucradas principalmente las células fagocitarias como neutrófilos, monocitos y células dendríticas, además de eosinófilos, basófilos y linfocitos NK. Barreras físicas y químicas como mucosas y el sistema del complemento también son consideradas parte de la respuesta innata (Male, 2021).

La respuesta adaptativa, al contrario de la innata, es específica debe ser activada y tiene la capacidad de generar memoria inmunológica a largo plazo (Yatim & Lakkis, 2015). La línea linfoide, a excepción de linfocitos NK, son las células encargadas de mediar esta respuesta, junto con la interacción de células presentadoras de antígenos (Bonilla & Oettgen, 2010). El sistema inmune e innato interactúan constantemente dando como resultado la salud de un organismo (Male, 2021).

La sangre, junto con los tres linajes celulares (leucocitos, eritrocitos y trombocitos) surgen durante del desarrollo intrauterino en mamíferos (Hickman, 2007). De hecho, hay transferencia de componentes inmunes vía placenta, especialmente anticuerpos de tipo IgG en el último trimestre del embarazo (Carr et al., 2021). Sin embargo, la maduración completa del sistema inmune es postnatal; tanto el calostro como la leche materna, además de inmunoglobulinas contienen componentes bioactivos que permiten que la cría desarrolle por completo su sistema (Hinde & German, 2012).

A través de la sangre es posible determinar la salud de un individuo ya que se pueden observar eritrocitos, asociados con el correcto transporte de oxígeno, leucocitos, que hablan de la función inmune y plaquetas que son indicadores de coagulación y algunos trastornos cancerígenos (Weiss & Wardrop, 2010). Los leucocitos se pueden medir de manera general a través de conteos leucocitarios totales (WBC por sus siglas en inglés) y de manera específica con conteos diferenciales. Al contrastar los parámetros de un sujeto de estudio con los normales esperados se pueden hacer inferencias de su salud (Theml et al., 2004b).

El elefante marino del Norte (*Mirounga angustirostris*) es un modelo de estudio interesante para estudiar parámetros hematológicos debido a su historia de vida. Las hembras de *M. angustirostris* llegan a las playas del archipiélago de San Benito en los meses de diciembre-enero (Elorriaga-Verplancken et al., 2015). Pocos días después de su arribo a la playa tienen una cría que pesa entre 40 y 50 kilos. La madre la va a amamantar por 28 días y después habrá un destete abrupto. Para este momento las cría destetada pesa entre 140 y 150 kilos (Würsig et al., 2018). Los cachorros abandonados permanecerán en la playa en ayuno por aproximadamente 60 días en lo que aprenden a nadar y cazar, durante este tiempo las crías de

elefante dependerán enteramente de sus reservas de grasa para sobrevivir (McMahon et al., 2000a).

Estudiar los parámetros leucocitarios en crías de *M. angustirostris* es interesante y relevante ya que la salud de las crías se relaciona directamente con la calidad de leche materna, que a su vez depende del alimento disponible durante la temporada de alimentación en aguas del pacífico norte (Le Boeuf & Laws, 1994).

En este estudio se analizaron los parámetros leucocitarios de crías destetadas de elefante marino del Norte nacidas en el archipiélago de San Benito entre los años 2016 y 2023. Se utilizaron conteos de leucocitos totales y diferenciales. También se elaboró un índice clínico para determinar la salud general de las crías. El objetivo fue conocer si estos parámetros tienen alguna relación con el año de muestreo, el sexo de los individuos, las medidas morfométricas (longitud total y diámetro umbilical) y la condición corporal (dada por la capa de grasa).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto del sexo, morfometría, condición corporal y año de nacimiento sobre los leucocitos circulantes de las crías de elefante marino del Norte.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analizar las diferencias en las poblaciones leucocitarias circulantes de las crías de elefante marino del Norte a lo largo de los años de muestreo.

Identificar si los leucocitos circulantes cambian de acuerdo con el sexo de las crías de elefante marino del Norte.

Determinar la relación entre las medidas morfológicas indicadoras del desarrollo neonatal de las crías de elefante marino del Norte y sus leucocitos circulantes.

Investigar si la condición corporal de las crías de elefante marino del Norte influye sobre los leucocitos circulantes.

HIPÓTESIS

1. Existen diferencias en las poblaciones de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte según el año de muestreo.
2. Los valores de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte son diferentes entre sexos.
3. Los valores de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte cambian de acuerdo con las medidas morfológicas de los animales.
4. La condición corporal de las crías de elefante marino del Norte predice los valores de leucocitos circulantes.

ANTECEDENTES

1. Sistema inmunológico

El sistema inmune es un conjunto de células y moléculas que actúan de forma coordinada y que permiten la defensa o tolerancia de un organismo luego del reconocimiento de agentes ajenos, así como la reparación, limpieza y mantenimiento de la homeostasis en los tejidos, además de estar involucrado en procesos de desarrollo (Pradeu, 2019). Las células efectoras de este sistema son conocidas como leucocitos o células blancas y se albergan principalmente en órganos linfoides.

En los vertebrados, los órganos linfoides se clasifican como primarios y secundarios. Uno de los órganos linfoides primarios en mamíferos es la médula ósea, donde se encuentran las células madre y progenitoras mieloides, y linfoides, de leucocitos y es donde varios tipos de leucocitos linfoides, como los linfocitos B maduran. Algunos leucocitos de origen linfoide, como los linfocitos T, requieren migrar al timo, que es otro órgano linfoide primario, para completar su maduración (Nelson & Demas, 2012). Los nódulos linfáticos regionales, bazo, apéndice, placas de Peyer, tejido linfoide asociado nasal, anginas, entre otros, son órganos linfáticos secundarios, y en ellos suele iniciarse la respuesta inmune primaria (Randall et al., 2008). Todos los leucocitos utilizan el torrente sanguíneo para migrar desde y hacia los órganos linfáticos y distribuirse a todos los tejidos del individuo (Male, 2021),.

Existen dos tipos de respuestas inmunes en animales, la respuesta innata, que se encuentra en todas las especies animales y la respuesta adaptativa que está presente únicamente en los vertebrados gnatostomados (que poseen mandíbula inferior articulada) (Nelson & Demas, 2012). A continuación, se explicará brevemente en que consiste cada una.

1.1 Respuesta innata

La inmunidad innata consiste en reacciones inmediatas, no específicas y codificadas en la línea germinal que funcionan como primera línea de protección contra agentes externos. Esta respuesta está compuesta por factores físicos, químicos y celulares. Las membranas mucosas y la piel, por ejemplo, son parte de las barreras anatómicas físicas (Nelson & Demas, 2012). La respuesta química consiste en la acción de lisozimas, activación del sistema de complemento, liberación y acción de proteínas de fase aguda, interferón y otros péptidos señalizadores (Hickman, 2007; Male, 2021).

La respuesta innata celular es mediada por leucocitos de origen mieloides, que son capaces de fagocitar. Estas células son neutrófilos, monocitos (que se diferencian a macrófagos en los tejidos) y células dendríticas (Male, 2021). Algunos de estos fagocitos funcionan como células presentadoras de antígenos (APC por sus siglas en inglés). Como su nombre lo dice, estas células después de fagocitar un patógeno lo procesan, seleccionando ciertos péptidos que serán presentados o expuestos en la membrana por medio del complejo mayor de

histocompatibilidad de clase dos (MHC II). Esta presentación se da en nódulos linfáticos y permite la activación de células T que a su vez activarán a células B, dando inicio a la respuesta adaptativa. Leucocitos de origen linfoide que actúan en la respuesta innata incluyen a las células asesinas naturales (NK, por sus siglas en inglés), las cuales tienen acción citotóxica, reconocen el MHC I de las células y destruyen aquellas que no lo posean o no corresponda con el normal (Poznanski & Ashkar, 2019); las células linfoides innatas (ILC) que son linfocitos que no poseen receptores de reconocimiento de antígenos, pero son activados por citoquinas y regulan la respuesta inmune (Nagasawa et al., 2018). Además, parte de la respuesta innata depende de las células que producen mediadores de inflamación como eosinófilos, basófilos y mastocitos (Male, 2021; Nelson & Demas, 2012).

El sistema del complemento es un conjunto de enzimas que circulan en la sangre como zimógenos y que, una vez activados por la presencia de proteínas o ácidos nucleicos foráneos o por la presencia de anticuerpos, son activados e inician una reacción en cadena que conduce a la destrucción de las células en las que se hayan depositado las proteínas activadas (Male, 2021). Una vez activado, el complemento daña la membrana celular; promueve la permeabilidad vascular y la entrada de leucocitos, activa procesos inflamatorios; y genera opsonización (Hickman, 2007), que como señalan Thau y colaboradores en 2023 es un marcaje molecular mediante opsinas que facilita que células con habilidad fagocitaria lleguen al sitio de acción (2023). El sistema del complemento considera parte de la inmunidad innata, aunque activa a células de la inmunidad adaptativa (Male, 2021).

Aunque no suele ser considerado parte del sistema inmune, la microbiota también forma parte del mismo, al actuar como una barrera química y ecológica primaria de defensa o tolerancia contra otros microorganismos (Nelson & Demas, 2012).

1.2 Respuesta adaptativa

La respuesta adaptativa es más reciente, evolutivamente hablando; se estima que se desarrolló hace aproximadamente 450 millones de años cuando aparecen los vertebrados gantostomados (Yatim & Lakkis, 2015). Este sistema toma más tiempo en actuar que la respuesta innata, requiere ser activado, es específico, genera memoria y funciona como la segunda línea de defensa ante la entrada de un agente extraño (Nelson & Demas, 2012). Sin embargo, a diferencia de los efectores de las respuestas innatas, las respuestas adaptativas se basan en el reconocimiento de antígenos, es decir, fragmentos pequeños específicos de proteínas, lípidos o carbohidratos (Yatim & Lakkis, 2015) y no en patrones moleculares más genéticos de microorganismos (PAMPS) o de células dañadas (DAMPS). La evolución de la respuesta adaptativa ha permitido que pueda diferenciar con detalle los antígenos propios de los ajenos y generar memoria a largo plazo que permita defenderse de ellos. Para esto, existe una importante comunicación entre APCs y linfocitos de tipo T y B. (Bonilla & Oettgen, 2010).

Los linfocitos, como se describirá más adelante, son leucocitos pequeños (6-9 μ m) que se originan de la célula linfoide precursora. Específicamente los linfocitos T y B tienen un papel protagónico en la respuesta inmune adaptativa (Theml et al., 2004a). De manera general, los linfocitos T poseen receptores en su membrana (TCR) que permiten identificar moléculas

propias de las ajenas, mientras que los linfocitos B poseen receptores (BCR) capaces de reconocer antígenos, también llamados inmunoglobulinas (Yatim & Lakkis, 2015). Los linfocitos T se diferencian en subpoblaciones entre las que destacan las células T citotóxicas (Tc, o CD8⁺), células T de ayuda (Th o CD4⁺) y células T reguladoras (Treg) (Sun et al., 2023; Zhu & Zhu, 2020). Los linfocitos B se diferencian, una vez activadas, en células B de memoria, que permanecerán en médula ósea y en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas (Igs) (Cancro & Tomayko, 2021).

Cuando hay una célula invasora o algún agente que es reconocido como ajeno, las APC lo fagocitan y procesan ciertos péptidos para exponerlos en el MHC II. Estos péptidos son presentados en nódulos linfáticos a células Th ingenuas. Para que las Th se activen deben recibir dos señales: una es la unión del péptido en el MHC II a los TCR y la segunda es la unión de proteínas coestimuladoras tipo B7 a receptores CD28. Estas dos señales convierten a las Th ingenuas en Th efectoras, Th1 (que activa macrófagos, Tc y células B) y Th2 (que activa específicamente a células B (Alberts, Johnson, & Lewis, 2002). La activación de células B genera células plasmáticas, encargadas de la producción de anticuerpos y células de memoria que permanecen en médula ósea de huesos largos y centros germinales de nódulos linfáticos. Si se da una exposición al mismo antígeno en el futuro, cuando las APC lleguen a presentarlo la activación será mucho más veloz (Bonilla & Oettgen, 2010).

Los anticuerpos pueden neutralizar virus o bacterias al bloquear a las proteínas que hacen contacto con los receptores celulares, activar al sistema de complemento o marcar al agente o célula infectada para fagocitosis o apoptosis (es decir, opsonizar) (Thau et al., 2024). Además de activar a las células de memoria, los linfocitos T, específicamente los Tc pueden destruir células infectadas y los Treg modulan la respuesta inmune, propiciando tolerancia para evitar daños al individuo o autoinmunidad (Sun et al., 2023)

Es importante destacar que todas las células inmunes y los péptidos de señalización inmune se trasladan de lugar mediante el torrente sanguíneo. Por otro lado, se producen como parte de los componentes de la sangre, por lo que explicar el origen y desarrollo del sistema sanguíneo es de relevancia para esta tesis.

2. Ontogenia del sistema circulatorio

El sistema circulatorio en mamíferos es un sistema cerrado compuesto por el sistema vascular sanguíneo y el sistema linfático. Entre ambos se encargan de la distribución de nutrientes, oxígeno, células, moléculas señalizadores y retiro de sustancias de desecho (König & Liebich, 2005). Su desarrollo es de relevancia para el entendimiento de las funciones inmunes. A continuación, se describen los procesos relevantes de desarrollo en este sistema.

2.1 Hematopoyesis

La hematopoyesis es el proceso mediante el cual se forma la sangre. Se sabe, como menciona Orkin (1995), que el sistema hematopoyético deriva del mesodermo ventral y durante el desarrollo sucede en dos momentos: la etapa primitiva y la etapa definitiva. A inicios de la

gestación, dentro del saco vitelino extraembrionario se forman islas de sangre, en las cuales se desarrollan eritrocitos y monocitos.

Los eritrocitos primitivos o transitorios son de mayor tamaño que los maduros y hasta el día 12 de gestación permanecen nucleados (Weiss & Wardrop, 2010). En los mamíferos, los eritrocitos maduros carecen de núcleo, aunque en aves, reptiles y peces, los retienen (Hickman, 2007). Estas células transitorias no tienen capacidad de renovación ni pluripotencialidad dado que su función, como plantearon Palis y Yoder en 2001, es brindar energía (oxígeno) a los tejidos del embrión en crecimiento solo temporalmente (Palis & Yoder, 2001). Posteriormente, la curva definitiva inicia intraembrionalmente en la zona aorta-gonada-mesonefros (AGM). Las células en esta zona son multipotenciales; lo que quiere decir que tienen la capacidad de generar todos los linajes celulares presentes en sangre, tanto de la línea mieloide como de la linfoide, estas células son conocidas como hemocitoblastos (Paik & Zon, 2010). Los hemocitoblastos migran al hígado fetal donde van a madurar y finalmente, poco antes del nacimiento, se trasladarán a la médula ósea y bazo (Weiss & Wardrop, 2010). La médula permanecerá como la principal zona hematopoyética a lo largo de la vida del organismo (Jagannathan-Bogdan & Zon, 2013).

La hematopoyesis no es un proceso limitado al desarrollo, el tejido sanguíneo debe renovarse constantemente. Es por esto que a partir de la instalación de los hemocitoblastos en la médula ósea ocurren procesos de proliferación y diferenciación periódicos (Jagannathan-Bogdan & Zon, 2013).

En la médula ósea hay células madre hematopoyéticas (HSC por sus siglas en inglés) que son multipotenciales. Al dividirse pueden diferenciarse en precursores oligopotenciales de la línea mieloide o linfoide (Kondo et al., 2003; Wolpert et al., 2019). La línea mieloide da lugar a los megacariocitos, eritrocitos, plaquetas, granulocitos (eosinófilos, basófilos y neutrófilos) y monocitos, mientras que la línea linfoide genera linfocitos T, linfocitos B y células NK (Kondo, 2010; Theml et al., 2004a).

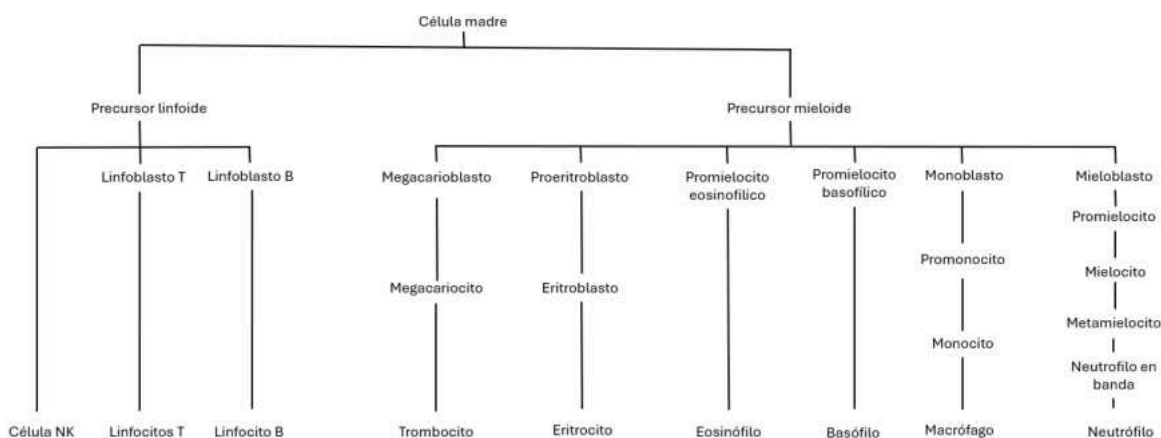


Figura 1. Desarrollo de los linajes sanguíneos (modificado de Theml et al. 2004).

La función y estructura de cada tipo celular sanguíneo varía (Cuadro 1). Además, cada uno tiene estadios inmaduros derivados de las líneas antes mencionadas (Figura 1).

Cuadro 1. Leucocitos en sangre. Descripción y función de cada tipo celular. Basado en Teml et al. 2004, Longo 2012 y Male 2021.

Leucocito	Descripción con tinción de	Función
Neutrófilos	Células de aproximadamente 10–14 µm de diámetro, con núcleo elongado y separado en tres a cinco lóbulos, cromatina oscura y con gránulos de heterocromatina más densos. El citoplasma es claro a veces con textura granular muy fina.	Fagocitosis bacteriana. Presentes en sangre y migran al tejido requerido.
Monocitos	Leucocitos de mayor tamaño (15 -22 µm de diámetro), con núcleo en forma de herradura, gránulos azurófilos en citoplasma y muchos lisosomas	Capacidad fagocítica bacterias, protozoarios, hongos y otros cuerpos ajenos. Se transforman dependiendo al que lleguen.
Linfocitos	Células más pequeñas que neutrófilos, con núcleo grande y oscuro, el citoplasma es escaso y de haber gránulos están en zona perinuclear.	B: Formación de células de memoria y células plasmáticas capaces de generar anticuerpos. T: función citotóxica, reguladora y de ayuda en la respuesta inmune adaptativa NK: Eliminación de células transformadas o infectadas por diversos virus
Eosinófilos	Leucocitos de mayor tamaño que neutrófilos con núcleo poco lobulado y cromatina poco condensada. Citoplasma claro con notables gránulos color rosa-rojo.	Función reguladora y antiparasítica
Basófilos	Células con tamaño similar a eosinófilos con abundantes gránulos oscuros que suelen ocultar el núcleo poco lobulado.	Regulación de inflamación a nivel local

A continuación, se describirá la maduración de las células linfoides y mieloides.

2.2 Maduración de línea linfoide

Los linfocitos T se forman en la médula ósea, o en el hígado durante la etapa fetal (Orkin, 1995) a partir de células madre que se diferencian en progenitores linfoides, llamados timocitos; estos migran por el torrente sanguíneo al timo, donde maduran y son ‘entrenados’ (Takahama, 2006). La maduración involucra la expresión de receptores CD8 y CD4 y de los receptores de linfocitos (TCR, en el caso de los linfocitos T). Este proceso se da por la recombinación de genes VDJ (Bonilla & Oettgen, 2010). Los genes VDJ son tres regiones del gen que codifica para BCR y TCR. V se refiere a elementos variables, D elementos de diversidad (solo para BCR) y J elementos de unión. Estas regiones genéticas se recombinan aleatoriamente y dan como resultado una enorme variedad de receptores capaces de reconocer una amplia variedad de antígenos (Roth & Craig, 1998).

Después de la maduración inicia el ‘entrenamiento’, el cual consiste primero en eliminar las células que no puedan unirse correctamente su proteína de membrana CD8 o CD4 al complejo mayor de histocompatibilidad clase uno (MCH I) o clase dos (MHC II), respectivamente. A este proceso se le llama selección positiva (Weiss & Wardrop, 2010). Posteriormente, se eliminan

aquellos linfocitos que tengan TCR con afinidad por antígenos propios (es decir, por fragmentos proteicos del organismo). Estos se consideran linfocitos autorreactivos. Este proceso se lleva a cabo por medio de la presentación de antígenos propios por parte de las células presentadoras de antígenos (APC), y es conocido como selección negativa (Weiss & Wardrop, 2010). Finalmente se establece si los linfocitos serán de tipo T citotóxico (Tc) [i.e., mantienen solo la expresión de la proteína de membrana CD8⁺ (serán linfocitos Tc) o la de CD4⁺ (serán linfocitos Th)] (Takahama, 2006). Los Tc son capaces de inducir la destrucción de células infectadas o malignizadas, mientras que los Th pueden detectar antígenos que les son presentados por las APC y activar a los linfocitos B. Adicionalmente hay linfocitos regulatorios (Treg) que ayudan a modular la respuesta inmunológica (Swain, 1995). Estos son linfocitos que mostraban una moderada a baja autoreactividad (Bossart, 2011).

Por otro lado, los linfocitos B se generan y maduran en la médula ósea. Su función es la producción de anticuerpos y el establecimiento de memoria inmunológica a largo plazo. La principal característica de estas células es la producción de inmunoglobulinas que son receptores de membrana (BCR), y que, a diferencia de los TCR, pueden ser secretadas, por lo que se conocen también como anticuerpos (Cancro & Tomayko, 2021). Los anticuerpos o BCR son, como se explicó anteriormente, son el resultado de la recombinación de genes VDJ (Roth & Craig, 1998).

La primera etapa de la maduración de los linfocitos B es la formación de células pro-B. Estas células tienen capacidad de proliferación celular limitada y en ellas, ocurre un proceso de recombinación somática que da como resultado un re-arreglo de la cadena ligera y la cadena pesada de las inmunoglobulinas (Hardy & Hayakawa, 2001). Explicar detalladamente el mecanismo mediante el cual ocurre la recombinación somática excede el objetivo de la tesis; sin embargo, depende de la expresión del gen activador de la recombinación (RAG, por sus siglas en inglés) que permite el reacomodo de un gen de cada una de las variantes somáticas del gen V, del gen D y del gen J. Las estructuras de la cadena ligera y pesada de los anticuerpos pueden observarse en la Figura 2. Posteriormente, mediante la señalización de citoquinas, se generan células pre-B donde una proteína citoplasmática de cadena pesada se une a la cadena ligera evitando que la cadena pesada siga cambiando. Después se da el re-arreglo de la cadena ligera. A continuación, se combinan la cadena pesada y ligera dando lugar a inmunoglobulina M (IgM) (Weiss & Wardrop, 2010). Finalmente, al igual que en los linfocitos T, las células autorreactivas pasan por un proceso de selección negativa (Wang et al., 2020). Para que las células B sean activadas y proliferen deben estar en contacto con el antígeno correspondiente (Hardy & Hayakawa, 2001).

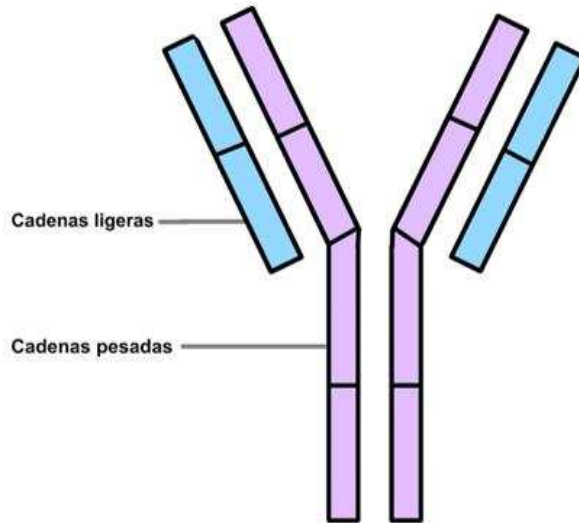


Figura 2. Estructura básica de una inmunoglobulina (anticuerpo).

Para madurar, las células NK primero se definen por factores de crecimiento (como el factor estimulador de colonias de células madre) y citoquinas, como la interleucina 15 (IL-15) y la interleucina 2 (IL-2) (Montaldo et al., 2013), dando lugar a células inmaduras, las cuales expresan en su membrana receptores CD56 y CD94. Posteriormente son expuestas a distintos antígenos por APC y moléculas del MHC con el fin de eliminar NK autorreactivas (Montaldo et al., 2013). Finalmente circulan en sangre y al ser activadas pueden liberar citoquinas inflamatorias como interferón gama, perforina o inducir apoptosis (Poznanski & Ashkar, 2019).

2.3 Maduración de línea mieloide

De la línea mieloide derivan dos grandes grupos celulares: los progenitores de los monocitos y los granulocitos y los progenitores de megacariocitos y los eritrocitos (Dzierzak & Philipsen, 2013). Los megacariocitos son células grandes que residen principalmente en la médula ósea, y que tienen la función de diferenciarse en plaquetas (Puhm et al., 2023). Los eritrocitos, por otro lado, derivan de un progenitor que debe pasar por varias etapas de maduración entre las que se encuentran rubriblasto, rubricito basofílico, rubricito policromatófilo, metarubricito, reticulocito y, finalmente, el eritrocito anucleado (Dzierzak & Philipsen, 2013). No se abordará más de ninguna de estas células (plaquetas y eritrocitos) debido a que esta tesis se enfoca únicamente en los leucocitos.

Los granulocitos son, como lo dice su nombre, células que desarrollan en su citoplasma gránulos con diferentes sustancias. Estos compuestos químicos permiten degradar moléculas de agentes patógenos o al agente mismo (Theml et al., 2004a). El desarrollo de granulocitos da como resultados basófilos, eosinófilos y neutrófilos. Los eosinófilos, por ejemplo, contienen proteína básica mayor (MBP por sus siglas en inglés), proteína catiónica eosinofílica (ECP), peroxidasa eosinofílica (EPO) y neurotoxina derivada eosinofílica (EDN); los basófilos contienen heparina, sulfato de condroitina, histamina, factor quimiotáctico de neutrófilos

(NCF), calicreína de reacción lenta y el factor activador de plaquetas (PAF); por último los gránulos de neutrófilos llevan dentro lisozima, colagenasa, elastasa, defensina, catelicidina, colagenasa, β 2 microglobulina y gelatinasa (Siemińska et al., 2021). Tanto eosinófilos como basófilos maduran por completo en la médula ósea y es poco común ver morfologías intermedias en sangre. Sin embargo, es común que los neutrófilos puedan encontrarse en la sangre en sus formas inmaduras. De manera normal la maduración de neutrófilos se da de la siguiente manera: primero, son mieloblastos, que pasan a promieloblastos en la médula ósea; ambos precursores poseen solo gránulos azurófilos. Posteriormente maduran a mielocitos y metamielocitos, que ya contienen gránulos específicos y la siguiente etapa de maduración es la de neutrófilo con núcleo en banda, que cuentan con los gránulos antes mencionados, además de gelatinasa (Dahl et al., 2003). La principal característica de los neutrófilos en banda es que su núcleo no presenta segmentos; una vez terminada la segmentación nuclear y la adición de vesículas secretoras, se considera un neutrófilo maduro, que es el que en condiciones normales circula en la sangre y conforma la mayor parte de los leucocitos circulantes (Weiss & Wardrop, 2010). Cuando comienza una infección, los neutrófilos se activan, lo que requiere de la expresión diferencial de genes, y migran al sitio de daño. Ahí cumplen funciones como degranulación, fagocitosis y liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs por sus siglas en inglés) (Hidalgo et al., 2022). Sin embargo, en ciertas ocasiones, si la inflamación o infección son prolongadas, se pueden liberar células inmaduras al torrente sanguíneo (Borregaard, 2010). La sobreproducción de neutrófilos puede ayudar a controlar ciertas infecciones, pero también pueden ocasionar o agravar problemas de la regulación de la inflamación (Blanco et al., 2021).

Tanto los granulocitos como los monocitos tienen un progenitor mielóide común. Lo que determina en qué dirección se irán son los factores de transcripción PU.1 y C/EBP α (Dahl et al., 2003; Siemińska et al., 2021). Por ejemplo, se requiere de más expresión de PU.1 para monocitos que neutrófilos y los neutrófilos tienen mayor expresión de C/EBP α , lo que determina la expresión de los factores de transcripción son las citoquinas (Dahl et al., 2003). Los monocitos, a diferencia de los granulocitos, poseen algunos gránulos, pero su principal componente citoplasmático son los lisosomas (Male, 2021). Estas células maduran por completo en médula ósea y son liberadas a la circulación periférica; de ahí, pueden migrar a los tejidos y diferenciarse en macrófagos. Sin embargo, existe mucha heterogeneidad en los monocitos y no todas las variantes terminan siendo macrófagos residentes de tejidos (Guilliams et al., 2018).

Habiendo cubierto los principales aspectos de desarrollo ahora se detallará cómo es el sistema inmunológico de los neonatos y lactantes.

3. Sistema inmunológico en lactantes

A partir del nacimiento todos los recién nacidos entran en contacto con miles de microorganismos y el sistema inmunológico debe comenzar a funcionar tanto en el ámbito tolerante como resistente. Sin embargo, como se explicó anteriormente, su maduración es paulatina y al momento del nacimiento aún no ha terminado este proceso. Durante el desarrollo *in útero* hay una transferencia de componentes inmunes de la madre a la cría vía

placenta, lo más abundante son inmunoglobulinas tipo IgG. Estas inmunoglobulinas se transmiten al producto principalmente en el último trimestre del embarazo en el caso de humanos y conejos (Carr et al., 2021). Cabe señalar que esta transferencia, que provee inmunidad pasiva, no sucede en todas las especies. Rumiantes y ungulados relacionados reciben estos elementos únicamente mediante el calostro después del nacimiento (Larson et al., 1980). Adicional a las inmunoglobulinas (en el caso que las haya) dentro del útero el líquido amniótico contiene ciertos factores de resistencia a infecciones (Palmeira & Carneiro-Sampaio, 2016).

Posterior al nacimiento, el calostro y la leche materna proveen a la cría no solo de los nutrientes necesarios para su supervivencia (Hinde & German, 2012), sino también de componentes bioactivos para permitir la función inmunológica y la maduración de su propio sistema (Raju, 2011). Estos componentes incluyen inmunoglobulinas, lisozima, lactoferrina, citoquinas, componentes del sistema del complemento, leucocitos, oligosacáridos, nucleótidos, lípidos, hormonas, factores de crecimiento, vesículas extracelulares, y exosomas con mRNA y miRNA (Admyre et al., 2007; Carr et al., 2021; Hinde & German, 2012; Palmeira & Carneiro-Sampaio, 2016; Yi & Kim, 2021).

Cada uno de estos factores tiene un papel importante en la maduración y función de la inmunidad del recién nacido. La lactoferrina, junto con la lisozima, es una enzima capaz de degradar algunas bacterias (Palmeira & Carneiro-Sampaio, 2016). La lactoferrina, adicionalmente, tiene acción inmunomoduladora, antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngica y antiviral. Además, promueve el crecimiento de bacterias de bajo requerimiento de hierro consideradas beneficiosas para los humanos, como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Carr et al., 2021). Los componentes del sistema del complemento permiten que sucedan las reacciones en cascada que ayudan tanto en la respuesta innata y adaptativa. Elementos de este sistema se han encontrado tanto en el calostro como en la leche de bovinos y se propone que junto con la transferencia de anticuerpos forma parte de la inmunidad pasiva de las crías (Hanson, 1998; Korhonen et al., 2000). En cuanto a las inmunoglobulinas, se han encontrado en leche, y de manera más abundante, en el calostro (Carr et al., 2021; Korhonen et al., 2000; Larson et al., 1980). En humanos la inmunoglobulina más frecuente es IgA (95%) seguida de IgM (4%) e IgG (1%). En cambio, en bovinos la más abundante es IgG (85-90%), IgM (7%) e IgA (5%). Cabe mencionar que en bovinos estos anticuerpos pasan la barrera intestinal hacia el torrente sanguíneo y es esencial que suceda en las primeras 24 horas. Por el contrario, en humanos son muy pocos los que cruzan y más bien confieren protección local contra infecciones intestinales (Korhonen et al., 2000; Larson et al., 1980).

Otra sustancia importante en la leche son los oligosacáridos, estas moléculas permiten la colonización bacteriana, la cual se ha estudiado que define la inmunidad mucosal y tiene influencia a lo largo de la vida del individuo (Henrick et al., 2021). Los oligosacáridos de la leche materna no son descompuestos en el estómago y llegan intactos al intestino, esto permite que sean digeridos por bacterias, entre ellas las de la familia *Bifidobacteriaceae*. Estas bacterias inhiben la adhesión de organismos como *Campylobacter jejuni*, el virus Norwalk, *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli* al epitelio intestinal, además, producen ácidos grasos de cadena corta que dan energía a enterocitos y se ha estudiado que promueven una respuesta antiinflamatoria (Duranti et al., 2017; Henrick et al., 2021; Plaza-Díaz et al., 2018). Pero no son solo estos

prebióticos de la leche que se relacionan con la colonización bacteriana, Heikkila y Saris encontraron estafilococos y estreptococos comensalistas directamente en el fluido materno y se observó que estas bacterias eran capaces de interferir con el crecimiento de patógenos como *Staphylococcus aureus* (2003).

La leche materna (tanto el calostro como la leche madura) también contiene exosomas, que son nano vesículas que miden entre 30 y 100 nm, que sirven para transportar de forma endocrina a factores inmunoreguladores capaces de inhibir IL-2 inducida antiCD3, la producción de interferón α y aumentar el número de células T reguladoras de tipo Foxp3CD4CD25 (Admyre et al., 2007). De igual manera, como menciona Doare y colaboradores estas vesículas extracelulares contienen ARNm y miARN que modulan la señalización celular y el desempeño inmunológico (2018).

Del mismo modo que se transfieren componentes inmunes de la madre a la cría, el aporte energético de esta sustancia no debe ser ignorado. La leche es capaz de cubrir todas las necesidades energéticas de un cachorro por un tiempo determinado y además la composición de esta cambia conforme a las necesidades del lactante (Lyons et al., 2020). Por ejemplo, la foca capuchina (*Cystophora cristata*) alimenta a su cría solo durante cuatro días, en los cuales transfiere alrededor de 7kg de lípidos al día, pudiendo producir 22 litros de leche diarios. Esta carga de grasa le permite a los neonatos sobrevivir periodos de ayuno (Hinde & German, 2012). Asimismo, mediante este fluido pasan nutrientes esenciales como el nitrógeno que nutrirán el metabolismo proteico (Meciano et al., 2022). Aunque Hinde y German expresan que en esencia la lactancia es la transferencia de nutrias de manera vertical en mamíferos (2012), estudios como los mencionados en (Krol & Grossmann, 2018; Raju, 2011) muestran cómo es un proceso que va mucho más allá, involucrando ámbitos psicológicos y fisiológicos tanto de la madre como de la cría, aunque debido al enfoque de estas tesis esos aspectos no serán abordados.

Hay varios factores capaces de alterar el contenido de la leche, entre los que se encuentran la alimentación materna (Freitas et al., 2021; Marshall et al., 2022; Verduci et al., 2021), los contaminantes como bifenilos policlorados, arsénico, plomo, cadmio, mercurio y otros metales pesados (Pajewska-Szmyt et al., 2019), incluso el sexo de la cría puede determinar su contenido energético (Hosseini et al., 2020; Powe et al., 2010).

Esta información permite vislumbrar la relevancia que tiene la calidad de la leche materna en la salud de las crías y como influencia directamente en su desempeño inmunológico. Una vez destetados, los individuos dependerán de su alimentación y recursos fisiológicos para desarrollarse óptimamente.

4. Hematología

La sangre, como se ha mencionado a lo largo de los antecedentes, es un tejido por el cual los leucocitos viajan del sitio de origen al sitio de acción o se mantienen pasivamente; por lo que análisis de las células en sangre es de gran utilidad para conocer los parámetros leucocitarios de un individuo. Uno de los métodos que permite observar y cuantificar leucocitos es el frotis sanguíneo, con el cual se puede identificar síndrome mieloblástico, linfoma, leucemia, varios tipos de anemia, entre otros, Además de dar un panorama de la salud del individuo (Bain,

2005). Al analizar un frotis es posible obtener el número de leucocitos totales (WBC por sus siglas en inglés) y conteos diferenciales de células blancas. En esta sección se hondará en estos parámetros para mostrar su relevancia al obtener información inmunológica de los organismos.

El WBC es la abreviatura, en inglés, del conteo total de leucocitos en sangre. Como no es posible analizar toda la sangre de un organismo, se usan extrapolaciones para calcularlo. Con los conteos diferenciales es posible obtener un aproximado de cuantas células de cada serie hay en sangre (Gulati et al., 2013).

Para elaborar un frotis sanguíneo se debe colocar una gota de sangre fresca extraída del sujeto de estudio en un portaobjetos. Con otro portaobjetos se debe correr esa sangre a lo largo de la laminilla formando una lengua de gato. Es recomendable que el frotis se realice lo más cercanos posible a la toma de muestra. Hay algunas especies como perros y primates, donde después de dos horas del muestreo aún se conserva perfectamente la integridad celular, pero esto varía entre especies (Weiss & Wardrop, 2010). Una vez hecho el frotis, debe secarse con aire y ser teñida típicamente con la tinción de Romanowsky (Chabot-Richards & George, 2014). Esta tinción detecta cambios de pH y permite diferenciar los linajes celulares y sus estructuras. (Weiss & Wardrop, 2010). El mejor sitio para observar el frotis es la zona de pluma, que es donde se encuentra una fina monocapa donde las células no se tocan entre sí y son claramente visibles sus morfologías (Longo, 2012). Se recomienda primero observar con el objetivo 10X, en el microscopio, para tener un panorama amplio de la muestra, ver agrupaciones plaquetarias, y determinar si las células están bien conservadas. Después se observa a resoluciones mayores para determinar correctamente el tipo de célula y su estado de maduración. En conteos diferenciales es importante tomar en cuenta granulocitos inmaduros, linfocitos anormales y blastos (Chabot-Richards & George, 2014).

Los niveles de leucocitos normales son determinados por un conjunto de valores obtenidos de animales clínicamente normales, quiere decir que presenten una condición corporal, masa, y comportamientos esperados en un organismo sano. Aun así, es importante tomar en cuenta que hay un rango de error en donde hay individuos con valores dentro de lo normal que pueden estar enfermos y sujetos con valores atípicos que tienen buen estado de salud (Weiss & Wardrop, 2010).

Existen varios factores que pueden alterar los parámetros leucocitarios, como edad, sexo y estado de salud del individuo (Weiss & Wardrop, 2010). Por ejemplo, los recién nacidos e infantes, en humanos, tienen un WBC más alto que en etapas de mayor edad. En las primeras dos semanas los linfocitos son las células inmunes más abundantes y paulatinamente cambia a neutrófilos (Chabot-Richards & George, 2014). Otros factores como, sustancias tóxicas, radiación, formación de tumores, procesos autoinmunes o alérgicos e infecciones crónicas afectan la producción celular y los conteos leucocitarios (Theml et al., 2004)

Las anomalías cualitativas en leucocitos son de dos tipos, las que se desplazan a la izquierda (que son variaciones que tienden a tener formas inmaduras de los leucocitos) o desplazamientos a la derecha, donde al contrario de la anterior las células suelen ser más maduras de lo normal (Theml et al., 2004). Estos desplazamientos son comunes, por ejemplo, en procesos compensatorios, donde se pierden células y se deben liberar especímenes

inmaduros para cubrir las necesidades del individuo por alguna infección o simplemente la demanda es mayor (Longo, 2012). Estos desplazamientos son más notorios en algunos leucocitos como neutrófilos, donde valores elevados de neutrófilos en banda pueden indicar una infección bacteriana o niveles elevados de neutrófilos hipersegmentados pueden ser indicadores de anemia megaloblástica por falta de B9 y B12 (Honda et al., 2016; Longo, 2012; Theml et al., 2004). Cabe resaltar que no es suficiente con la presencia de estas células en etapas de maduración distinta para diagnosticar una enfermedad. En mamíferos marinos, por ejemplo, es normal que el 2-5% de los leucocitos sean identificados como bandas (Weiss & Wardrop, 2010).

Existen más anomalías cualitativas como los neutrófilos vacuolados que indican una sepsis bacteriana o granulados que se asocian con la enfermedad de Chédiak-Higashi, otras granulaciones tóxicas que se vinculan con inflamación sistémica, cuerpos de Dhole que muestran condiciones inflamatorias, los linfocitos vacuolados abundantes pueden relacionarse a leucemia linfoblástica aguda, linfocitos explotados (llamados smudge cells) están presentes cuando hay leucemia linfocítica crónica y como estos ejemplos hay muchos más (Longo, 2012).

En el caso de basófilos y eosinófilos se observan más los cambios cuantitativos (aunque también suceden en los otros leucocitos), especialmente cuando los conteos de estas células son elevados. Por ejemplo, los basófilos son poco comunes, representan solo de 0 a 1% de las células sanguíneas, cuando su presencia es abundante puede ser un indicador de leucemia mieloide (Longo, 2012). No obstante, el incremento en conteos de una serie puede deberse a falta de producción de otra dando como resultado la falsa percepción de que las cantidades de un leucocito en particular son elevadas (Theml et al., 2004). Es importante recalcar que tanto los cambios cualitativos como cuantitativos en los conteos sanguíneos están vinculados con alteraciones en médula ósea (Longo, 2012).

5. Elefante marino del Norte

Muchos aspectos entre ellos la alimentación son las que modulan la actividad inmunológica. Un periodo de ayuno permite quitar algunos factores de ruido para estudiar estos aspectos, especialmente si se conoce de dónde vienen las reservas con las que se contará en los tiempos sin alimento, por su historia de vida, el elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) es un buen modelo de estudio para profundizar en temas de ecoinmunología. A continuación se abordarán algunos aspectos de la biología de la especie que son necesarios para comprender su uso como modelo de estudio en la presente tesis.

5.1 Taxonomía

El elefante marino del Norte es un pinnípedo perteneciente a la familia Phocidae, y, junto con *Mirounga leonina* (el elefante marino del Sur), es de las especies de mamífero marino más grandes que existen, excluyendo a los cetáceos (Berta et al., 2015). Estas dos especies en particular, pero en general los pinnípedos, se caracterizan por tener un dimorfismo sexual muy marcado ya que el macho puede llegar a pesar entre ocho y 10 veces más que la hembra

(Würsig et al., 2018). Otra de las diferencias evidentes entre machos y hembras de este grupo es la probóscide (que le da el nombre de elefante) presente solamente en los machos. Esta les permite, junto con la expresión facial comunicar dominancia a otros machos en temporada reproductiva. También se propone que las vocalizaciones realizadas con esta trompa podrían relacionarse con el tamaño y forma del animal. Sanvito y colaboradores (2007) observaron que la probóscide crece de manera lineal los primeros nueve años, por lo que en algunas poblaciones podría servir para conocer la edad de los machos. Aunque tanto el elefante marino del norte como el del sur tienen esta probóscide, la especie del norte suele tenerla más larga al igual que un escudo de pecho más desarrollado. En cuanto a las hembras las del sur tienen la nariz más gruesa y redondeada que las del norte. Estas diferencias, aunadas a la distribución de las especies de *Mirounga* (*M. leonina* en el sur y *M. angustirostris* en el norte) son algunas de las características que separaron a ambas especies hace aproximadamente 0.61-3.96 millones de años (Berta et al., 2015).

5.2 Distribución

El elefante marino del Norte tiene una distribución de reproducción menos amplia que el elefante marino del Sur. Se conocen alrededor de 15 colonias que van desde Point Reyes en el norte de California, en Estados Unidos, hasta Baja California, en México. Stewart en 1997 utilizó radio telemetría vía satélite para ver el comportamiento migratorio de estas focas y mostró que hay una segregación de machos y hembras durante el periodo de alimentación. Ambos sexos migran a aguas del Pacífico Norte, pero machos llegan a latitudes más altas que las hembras y también a mayores profundidades. Se piensa que esta diferencia en la migración es debido a los requerimientos energéticos del macho que crece a una tasa mayor que las hembras (Stewart, 1997). Esta migración es de alrededor de 10,000 kilómetros y hay algunos individuos que la realizan dos veces por año. Una vez en invierno para reproducirse y una segunda ocasión para realizar la muda de piel y pelo en primavera (Würsig et al., 2018).

5.3 Historia de vida

Mirounga angustirostris tiene una historia de vida similar a la de otros pinnípedos, con periodos de ayuno, destete abrupto y migraciones bianuales, sin embargo, algunos aspectos son únicos del grupo. En esta sección se desarrollarán los aspectos más importantes de esta historia de vida.

La gestación de la especie se caracteriza por una duración de alrededor de 11 meses, pero al igual que otros pinnípedos los elefantes marinos presentan un fenómeno de diapausa (Hassrick et al., 2010). Las hembras entran en estro aproximadamente 24 días después del parto y en este tiempo, después de la copulación con el macho, se da la fertilización (Leboeuf, 1972). El ovulo fecundado se desarrollará solo hasta la etapa de blastocito y su desarrollo se detendrá hasta recibir señales ambientales que indiquen la implantación (Berta et al., 2015; Boyd, 1991). Se piensa que la implantación se da hasta el tiempo de muda, cuando las hembras regresan a tierra a cambiar de pelo y piel durante el verano (Hückstädt et al., 2018) Después de la implantación, el embarazo continúa su curso normal y entre los meses de enero

y marzo se da el parto, lactancia y destete (Leboeuf, 1972). La placenta de *M. angustirostris* se ha descrito como zonal, anular, laberíntica y endotelio-coriónica, similar a la de otros miembros del orden carnívora (Duessler et al., 2020).

Al nacer las crías pesan entre 40-50 Kg e inmediatamente comienza su periodo de lactancia (Würsig et al., 2018). La transferencia de nutrientes vía leche materna es altamente eficiente en esta especie ya que se da de manera intensiva durante 26-28 días; al terminar esta etapa los elefantes marinos pesan entre 140 y 150kg (McMahon et al., 2000b). En esta etapa las madres pasan por un periodo de ayuno desde la llegada a la playa hasta el destete. Este ayuno evita que la madre gaste energía en viajes de alimentación y puede transferir más nutrientes al cachorro (Le Boeuf & Laws, 1994). Se sabe, por estudios realizados por McMahon y colaboradores (2000) con el elefante marino del Sur, que la energía que poseen las hembras para sobrevivir la lactancia proviene de las reservas previamente almacenadas en los viajes de alimentación. En estos viajes la calidad del alimento es importante ya que no solo determinará la masa corporal de la cría, también determinará cuanto tiempo puede dedicar la madre a la lactancia. McMahon y colaboradores también encontraron que la masa de los cachorros al destete es relevante para su supervivencia ya que sus reservas son todo lo que tienen mientras logran aprender a nadar y cazar por ellos mismos. En este estudio se observó que los cachorros más gordos tenían aproximadamente 10 días más que los cachorros delgados para encontrar alimento en su primer viaje de alimentación. La masa de las crías está determinada por la cantidad y calidad de alimento disponible para la madre en zonas de alimentación, la capacidad de la hembra para almacenar la energía obtenida y la eficacia de la lactancia. Esto quiere decir que, al menos parcialmente, el crecimiento de la población está mediado por la salud del ecosistema marino de las zonas de forrajeo (McMahon et al., 2000^a).

En general para los pinnípedos, las etapas de mayor mortandad son las más tempranas. La supervivencia de la cría está estrechamente vinculada con la inversión de la madre sobre esta. Gantt (1973) determinó en un estudio con *M. angustirostris* que el 70% de las crías que son abandonadas o separadas de la madre mueren antes de llegar a la edad de destete. Sin embargo, también se observó que la mayoría de las madres (72%) alimentó a los recién nacidos el tiempo correspondiente. Al ser tan importante este aporte energético para los cachorros, existen algunos que buscan leche de otras madres; de hecho, en este mismo estudio se observó que el 80% de las crías buscó, y ocasionalmente logró obtener, leche de otra hembra. Esta plasticidad de lactancia beneficia a las crías huérfanas ya que el 38% de las madres que perdieron a su cría, adoptaron a otra y la amamantaron hasta el destete. Esto despierta preguntas interesantes con respecto a la unidad evolutiva que se encuentra bajo selección en esta interacción. Tal vez podría estar relacionado con el hecho que se observó que las hembras que no amamantaron o lo hicieron solo de manera ocasional no copularon (Gantt et al., 1973).

El destete, como ya se mencionó, es abrupto y las crías son abandonadas en las playas de reproducción. Ahí permanecen en ayuno entre cuatro y siete semanas, y la grasa corporal que lograron almacenar es su única fuente de energía; al final de este periodo comienzan a entrar al agua en búsqueda de alimento (Reiter et al., 1978) después pasan los siguientes seis meses en el mar. Durante esta etapa hay un 30% de mortandad (Würsig et al., 2018). En cuanto a las madres, unos días antes de terminar el periodo de lactancia entran en estro y copulan con el

macho. Sin embargo, el ovulo fecundado llegará a blastocisto y se implantará varios meses después, a este proceso se le conoce como implantación retardada y se observa en muchas especies de pinnípedos (Berta et al., 2015).

Los elefantes juveniles comenzarán a crecer sin regresar a la playa hasta alcanzar la madurez sexual (entre los tres y los ocho años) con excepción de los periodos de muda. Esta etapa es una de las más vulnerables. Le Boeuf (2019) estudió por más de cinco décadas a poblaciones de esta especie y menciona que la mayoría de las muertes son en altamar por depredadores como tiburón blanco u orcas y por falta de alimento en zonas de forrajeo. En este mismo estudio se menciona que el fenómeno de El Niño (ver sección 6.1) también impacta la disponibilidad de alimento y, en consecuencia, la supervivencia de los elefantes marinos. Las muertes en tierra suelen ser de crías aplastadas o destetadas temprana y, ocasionalmente, organismos adultos que fueron lesionados gravemente a consecuencia de peleas intraespecíficas.

Durante el periodo de crecimiento y forrajeo en mar abierto algunos autores proponen que machos y hembras se separan para alimentarse yendo los machos a mayores profundidades y latitudes más norteñas que las hembras (Stewart, 1997; Würsig et al., 2018). A pesar de esta separación De Long (2022) no encontró diferencias en la dieta de machos y hembras obtenida de lavados de estómago de 193 elefantes marinos entre los años 1984 a 1990. Hasta llegar a la madurez sexual los individuos solamente están en tierra para la muda de piel y pelo.

Entre los tres y los ocho años los machos llegan a las playas y tratan de conseguir territorios para hacer su harem, los machos jóvenes deberán esperar algunos años para poder ser competitivos con los machos dominantes (machos alfa). La territorialidad se marca con vocalizaciones, expresiones faciales, movimientos de dominancia y peleas (Sanvito et al., 2007). Las hembras llegan a las playas después y a los pocos días de su arribo paren a la cría engendrada el año anterior. Oothuizen y colaboradores (2021) monitorearon 7,420 elefantes marinos del sur de edad conocida durante 36 años y vieron que las hembras que se reproducían a más temprana edad tenían tasas más bajas de senescencia y tasas más altas de reproducción neta con respecto a las que se apareaban por primera vez a mayor edad o no periódicamente. La edad promedio de primera reproducción son cuatro años. Adicionalmente Le Boeuf (2019) observó que había *super mamás*; es decir, hembras que se reproducían año con año y eran más longevas que el resto. Estas hembras se ubicaban en sitios estratégicos de protección para sus crías (en el centro del harem para evitar aplastamientos por machos periféricos) y desde su primer año de reproducción tenían un cachorro. Estas *super mamás* son clave para el crecimiento de las poblaciones.

El éxito reproductivo de los machos, a diferencia de las hembras, se relaciona con su tamaño, su fuerza y su capacidad de ayuno. El tamaño y la fuerza para conseguir territorios con muchas hembras y la capacidad de ayuno para mantenerse vigilante del harem y fecundar a todos sus integrantes. Los machos pueden ayunar por hasta 100 días para mantener su rango social y a sus parejas reproductivas (Le Boeuf & Laws, 1994).

5.4 Alimentación

La dieta del elefante marino del Norte está basada prácticamente de forma exclusiva en cefalópodos (Würsig et al., 2018). En un estudio realizado por De Long (2022) se determinó que *Octopoteuthis deletron*, *Histioteuthis heteropsis*, *Gonatopsis borealis*, y *Histioteuthis dofleini* son los cefalópodos más comunes en la dieta de *M. angustirostris* junto con un pez del grupo de los teleósteos *merluccius productus*. No se encontraron diferencias de las especies presentes entre machos y hembras, solamente se encontró una diferencia significativa en machos juveniles que tenían ciclóstomos en su contenido estomacal (DeLong, 2022).

La presencia de estas presas es esencial para que los elefantes marinos puedan completar sus necesidades energéticas (McMahon et al., 2000). No solo es importante la obtención de alimento, sino también la optimización del mismo. *M. angustirostris* tiene estrategias para maximizar el ahorro de energía durante los periodos de ayuno que se dan cuando está en tierra firme. La principal estrategia es dormir. Cuando estas focas no están luchando, apareándose, amamantando o aprendiendo habilidades acuáticas (en el caso de las crías al final de su destete) duermen. Durante este sueño tienen periodo de apnea que pueden durar hasta 25 minutos. La apnea no solo economiza energía, también evita la pérdida de agua (Le Boeuf & Laws, 1994).

5.5 Estado de conservación

Históricamente, el elefante marino del Norte ha sido cazado por su piel, grasa y carne, así como por interacciones con la pesca comercial (Sydeman & Allen, 1999). Durante 50 años se cazó intensivamente a los elefantes marinos llegando a tener una población total menor a 100 organismos en 1890 (Würsig et al., 2018). Con el tiempo se han implementado medidas de protección, como la Ley de Protección de Mamíferos Marinos de EE. UU. de 1972 y la Ley de Especies en Peligro de Extinción de 1973, lo que ha llevado a una recuperación de algunas poblaciones (Sydeman & Allen, 1999). En el territorio mexicano, esta especie está en la Ley General de Vida Silvestre de México, disponible en https://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/146_200521.pdf, como especie sujeta a protección especial. Además de tener un apéndice para protección adicional en la *Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres* (CITES) disponible en <https://cites.org/esp/disc/text.php>. En 2014 *Mirounga angustirostris* fue colocada en una categoría de preocupación menor por la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). Esto se da principalmente porque su población va en aumento, a una tasa de 6% anual (Würsig et al., 2018), aunque en algunas zonas como el archipiélago de San Benito en Baja California no se detectaron cambios en la abundancia (García-Aguilar & Morales-Bojórquez, 2005) y, más recientemente, la población, en aguas mexicanas, parece estar disminuyendo a una tasa anual promedio de 3.6% de 2002 a 2019, y para 2019 se estimó la abundancia en 4,723 individuos (Rodríguez-Rafael et al., 2023).

Aunque la caza de los elefantes marinos del Norte está controlada, esta especie aun presenta varios retos para su supervivencia. Por ejemplo, se ha estudiado que el aumento de la temperatura superficial del mar (ver sección 6.1) disminuye la cantidad de presas disponibles

(este proceso se explica mejor en la sección de *Cambios ambientales en los ecosistemas marinos*) llevando a una menor acumulación de grasa por parte de la madre. Esto provoca que las crías del año siguiente tengan un menor peso al destete y su supervivencia se ve comprometida (Le Boeuf & Crocker, 2005).

Otras amenazas que no son exclusivas para la especie son las capturas incidentales por pesquerías o conflictos con pescadores. De hecho, esta es la principal causa de riesgo para 11 de las 13 especies amenazadas de pinnípedos (Kovacs et al., 2012). La exposición a sustancias tóxicas también es un riesgo actual para esta especie. Un estudio hecho en la Isla de Año Nuevo, EEUA, mostró que crías de *M. angustirostris* tienen PCBs (bifenilos policlorados) en la capa de grasa, los cuales pasan a circulación en el periodo de ayuno ya que las grasas son movilizadas para aprovechar su energía (Debiec et al., 2006). Estos compuestos químicos fueron ampliamente utilizados en diversos productos industriales, como refrigerantes, fluidos hidráulicos, tintas, y equipos eléctricos, entre otros y su acumulación en los tejidos trae efectos nocivos tanto para humanos como para vida silvestre, debido a su impacto sobre el sistema reproductor y el sistema inmune (Ross et al., 2000). Finalmente, una amenaza potencial son microorganismos patógenos de alta virulencia, incluyendo morbillivirus, herpesvirus y algunas especies de *Leptospira* (Barrett, 1995; Colegrove et al., 2005; Delaney et al., 2014; Goldstein et al., 2006; Horgan et al., 2023; Kennedy, 1998).

5.6 Hematología clínica

Se han estudiado los parámetros hematológicos del elefante marino del norte, especialmente en poblaciones estadounidenses. Estos parámetros incluyen a crías rehabilitadas después del destete, machos adultos no reproductores, juveniles y crías (Gulland et al., 2018). A continuación, se muestran los parámetros leucocitarios normales para crías destetadas rehabilitadas ya que estos valores están sustentados por mayor número de muestras y un rango temporal más amplio, además de que las crías analizadas en esta tesis también estaban en la etapa de destete (Cuadro 2).

6. Cambios ambientales en los ecosistemas marinos

Alrededor del 71% del planeta está cubierto por océanos, lo que permite comprender que desempeñen un papel fundamental en la dinámica terrestre, así como los fenómenos globales impactarán fuertemente a estos cuerpos de agua (Water Science School, 2019). La distribución y abundancia de especies depende no solo de los factores poblacionales intrínsecos, también las condiciones ambientales juegan un papel relevante (Sydeman & Allen, 1999). La temperatura, oxigenación, el pH y la producción primaria son solo algunos de los factores que tienen un efecto directo sobre los ecosistemas submarinos (Henson et al., 2017). A continuación, se describirán los principales elementos que impactan estos espacios.

Cuadro 2. Parámetros leucocitarios de referencia para *M. angustirostris*. Valores obtenidos de 25 crías rehabilitadas. Datos obtenidos de (Gulland et al., 2018)

Leucocitos	Rango normal / μ l
Leucocitos totales	11,200-29,600
Neutrófilos en banda	0-527
Neutrófilos maduros	7,176-20,714
Linfocitos	2,385-7,630
Monocitos	400-3,400
Eosinófilos	100-795
Basófilos	0-160

6.1 Temperatura

La temperatura puede definir la distribución, abundancia, comportamiento y reproducción de los organismos marinos (Sydeman & Allen, 1999). La temperatura cardinal es un término utilizado para definir puntos de temperatura críticos para los seres vivos. Por ejemplo, la temperatura cardinal mínima es la más baja a la cual un organismo puede sobrevivir, antes de la congelación intracelular letal. Lo mismo sucede con la máxima que es el punto antes de que se de muerte por estrés térmico (Jeffree & Jeffree, 1994). Normalmente, la distribución de una especie se encontrará en un punto intermedio entre la temperatura máxima y mínima, llamado temperatura cardinal óptima. Las zonas de temperatura optima se expanden a lo largo de un gradiente que cambia constantemente dependiendo de los cambios ambientales y la dispersión de las poblaciones (Jeffree & Jeffree, 1994).

La temperatura superficial del mar (TSM) corresponde a los primeros metros del océano y se ve influenciada por varios factores que se mencionarán más adelante (de Boer et al., 2007). Las variaciones en esta temperatura son relevantes ya que regulan las redes tróficas a través del flujo de nutrientes, distribución de peces y plancton (Beaugrand & Reid, 2003), además de otros aspectos biológicos como la reproducción y migración de algunas especies (Jeffree & Jeffree, 1994).

La TSM está interrelacionada con factores como salinidad, disponibilidad de energía y ventilación (de Boer et al., 2007). Al intercambio de gases entre el mar y la atmósfera se le llama ventilación oceánica e indica que tan eficientemente es este intercambio de gases, entre más eficiente más ventilado (Blanke et al., 2002). Cuando la temperatura es baja, las moléculas de agua están más juntas entre sí y esto permite retener más oxígeno en solución, cuando la temperatura es elevada, las moléculas se encuentran más separadas y no se puede retener tanto ese gas (Chang & Goldsby, 2011).

La energía disponible es la que impulsa el movimiento marino, que por supuesto, modula las condiciones climáticas oceánicas. Por ejemplo, el sol ejerce una fuerza al calentar el agua y

propiciar la evaporación. Se sabe que el océano transporta el mismo orden de magnitud de energía desde los trópicos hacia los polos que hacia la atmósfera en forma de evaporación (Jayne & Marotzke, 2001). El viento también tiene un papel importante en la dinámica ya que genera fuerza de arrastre en la superficie, además de que, en algunas regiones, la energía geotérmica puede influir en la circulación oceánica y temperatura, especialmente en zonas donde hay actividad volcánica submarina (Meyer et al., 2015). Aunado a esto, fenómenos climáticos como ENSO (El Niño Southern Oscillation; de aquí en adelante 'El Niño') o la Oscilación del Atlántico Norte también tienen una fuerte influencia sobre los ecosistemas marinos (Doney et al., 2012).

La salinidad hace referencia a la cantidad de sales disueltas en el agua de mar y esto cambia la densidad del fluido (Chang & Goldsby, 2011). El agua caliente es menos densa que el agua fría, pero al añadir el factor de salinidad puede resultar en aguas frías menos densas, por la concentración de sales o viceversa. Estos cambios de densidad permiten dinámica en el agua, que junto con otros factores crea corrientes (Meyer et al., 2015).

Todo lo antes mencionado forma una compleja red de interacción de factores físicos que en conjunto crean gradientes de distintas condiciones que regulan a los factores bióticos, como la productividad primaria, que a su vez regula a toda la red biológica que forma los distintos biomas (Wei et al., 2010).

El gradiente de temperatura óptimo para cada especie tiene variaciones que son detectadas como señales y permiten llevar a cabo o no procesos fisiológicos tan relevantes como la reproducción o migración (Jeffree & Jeffree, 1994; Olive, 1995; Saragoça Bruno et al., 2020). En el estudio de Olive 1995, encontraron que la temperatura, junto con otros factores como el fotoperíodo, tienen relevancia en los ciclos reproductivos de invertebrados marinos. Esta señal térmica es relevante ya que también permite la sincronización de liberación de gametos. Si este proceso no se sincroniza, la reproducción de varias especies de invertebrados no es efectiva (Olive, 1995). Los corales formadores de arrecifes, por ejemplo, sincronizan su desove a partir de la temperatura superficial del mar, esta señal ambiental permite la sincronía y por lo tanto se puede dar un intercambio genético en estos cnidarios (Keith et al., 2016). Keith y colaboradores encontraron que un aumento en la temperatura media del día podía producir alteraciones en los ciclos reproductivos anuales cuando el fotoperíodo también fungía un papel significativo en el mecanismo de sincronización.

Los cambios en las temperaturas no solo afectan la sincronía. En otro caso estudiaron como los cambios climáticos, especialmente por fenómenos como La Niña (caracterizada por surgencias de agua fría) o El Niño afectaban las nidadas de tortugas verdes en Costa Rica (Saragoça Bruno et al., 2020). Los autores encontraron que se depositaron menos nidadas de tortugas verdes dos años después de El Niño y más nidadas de tortugas verdes se depositaron dos años después de eventos de La Niña. Ellos proponen que esto es debido a que la temperatura afecta a la productividad primaria, en este caso los pastos marinos nicaragüenses de las que se alimentan las tortugas verdes. Si disminuyen los productores por las altas temperaturas, las tortugas (consumidores primarios) no tendrán energía suficiente para llevar a cabo la reproducción dicho año (Saragoça Bruno et al., 2020).

También se ha visto que El Niño puede tener efectos significativos en las poblaciones de pinnípedos, afectando la disponibilidad de alimentos y la distribución de las poblaciones (Sydeman & Allen, 1999). En el estudio de Le Boeuf y Crocker (2005) se observó que, durante un período cálido de 24 años, asociado a El Niño, la masa después del destete de crías de elefante marino disminuyó. En cambio, cuando las condiciones fueron más frías la masa de las crías fue mayor. Los autores indican que puede deberse a que, en los periodos cálidos asociados a la disponibilidad de sardinias, las madres deben invertir más energía en forrajeo, lo que culmina en menor ganancia de masa, de manera que se merma la cantidad de energía disponible para transferir a la cría vía leche materna y como resultado final las crías destetadas tienen menos masa. En periodos fríos, asociados a disponibilidad de anchoas, las madres gastan menos energía en la búsqueda de alimento, por lo tanto, la transferencia de grasa es mayor (Le Boeuf & Crocker, 2005)

Durante las últimas décadas la temperatura superficial del mar en varias regiones ha aumentado y esto podría estar asociado a cambios en la abundancia tanto de organismos de niveles tróficos inferiores (zooplancton) como superiores (peces, aves, mamíferos marinos) (Saragoça Bruno et al., 2020). Según el informe del IPCC, la temperatura media global puede aumentar entre 1.8°C y 4.0°C durante el siglo XXI, dependiendo del escenario de emisiones (Calvin et al., 2023). Independientemente del grado de aumento, es previsible que traerá consigo cambios ambientales que podrán tendrán efecto en los ecosistemas marinos y en sus integrantes más sensibles, aunque la temperatura no sea el único elemento que interfiere en la viabilidad de sus poblaciones.

6.2 Oxigenación

El oxígeno del mar, además de provenir del intercambio directo con la atmósfera, desde hace 2,700 millones de años se produce como resultado de la fotosíntesis (Kendall et al., 2010). Los organismos fotosintéticos marinos se encuentran en la zona fótica, que es donde pueden recibir fotones del sol, que son absorbidos por los pigmentos y convertidos en cargas eléctricas (Creatore et al., 2013). La amplitud de esta zona depende de factores como el movimiento del agua, la profundidad, y la cantidad de partículas disueltas (Tett, 1990). Los productores, ya sean macroalgas, microalgas y cianobacterias, absorben CO₂ disuelto (carbono inorgánico) y lo convierten en carbono orgánico que se utilizará para obtener glucosa y constituir sus tejidos (Reinfelder, 2011). A este cambio de fase, de inorgánico a orgánico, se le llama la bomba de carbono biológico (Johnson & Bif, 2021). Al absorber carbono para la fotosíntesis, los organismos liberan oxígeno, el cual permite que los seres vivos circundantes (y ellos mismos después) lo integren para obtener energía mediante procesos de respiración (Alberts, Johnson, Lewis, et al., 2002). Por supuesto, la concentración de oxígeno no depende solo de los seres fotosintéticos, también de factores físicos antes mencionados, como la temperatura, ventilación, dinámica, entre otros (de Boer et al., 2007).

A lo largo de los océanos hay gradientes de oxígeno, así como los hay de temperatura. Estas zonas con diferente concentración de oxígeno permiten que los organismos se distribuyan según sus requerimientos oxigénicos (Edgcomb & Pachiadaki, 2014). Por ejemplo, se ha estudiado que la diversidad de arqueas oxidantes del amonio (AOA por sus siglas en inglés)

cambia dependiendo de la cantidad de oxígeno disponible. Estas arqueas son importantes en las comunidades nitrificantes de los océanos y suelen encontrarse en zonas con surgencias (Molina et al., 2010), y la diversidad de AOA es mayor en las zonas con menos oxígeno en la zona de mínimo de oxígeno, como se vio frente a Perú y el norte de Chile y la plataforma continental frente a Chile central (Molina et al., 2010).

Naturalmente hay procesos que cambian la concentración de oxígeno en los mares. Por ejemplo, los florecimientos algales. Los florecimientos algales son una proliferación exponencial, pero efímera, de fitoplancton que suele darse por un aumento en los nutrientes disponibles (Schleyer & Vardi, 2020). Los florecimientos suelen ser detonados por surgencias, desembocamiento de ríos y circulación del agua (Sellner et al., 2003). La mayoría de las algas que pasan por procesos de proliferación de este tipo, son importante fuente de alimento y sostienen la cadena trófica, solamente 3-5% de los florecimientos son nocivos (Schleyer & Vardi, 2020). Se les llaman nocivos ya que se generan toxinas que pueden ser dañinas para varias especies. Se ha visto que la marea roja (un tipo de florecimiento algal nocivo) puede generar enfermedades y muerte en varias especies, incluyendo mamíferos marinos (Anderson, 2009). Algunos florecimientos de este tipo generan zonas de hipoxia en el océano debido a que un porcentaje la biomasa generada se hunde y comienza a descomponerse y esta descomposición consume el oxígeno disponible (Sun et al., 2022). Aunque, como se mencionó hay causas naturales para el aumento de nutrientes, las zonas muertas han ido en aumento debido al exceso de nitrógeno y fósforo, utilizados en fertilizantes agrícolas junto con el desecho humano y animal (Dybas, 2005). Más de la mitad del nitrógeno inorgánico disuelto proviene de productos fabricados por humanos. Las principales fuentes de nitrógeno inorgánico antrópico son: fertilizantes agrícolas, combustión de combustibles fósiles, siembra intensiva de leguminosas como la soja, ganadería, aguas residuales no tratadas y acuicultura de peces. La carga de nitrógeno de estos elementos termina por fluir en ríos que derivan en el mar, además de que también hay un aporte por deposición atmosférica (Malone & Newton, 2020) (ver Figura 3).

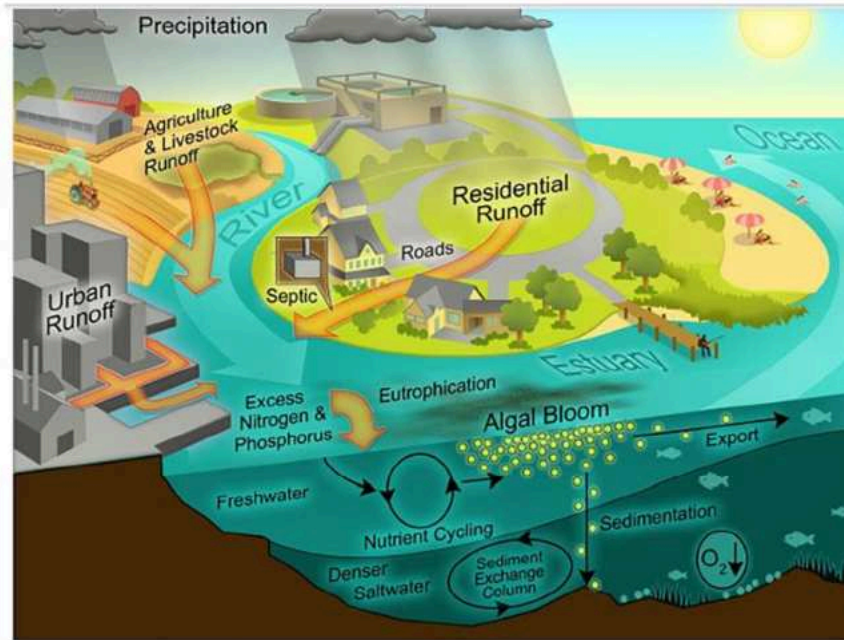


Figura 3. Fuentes de nitrógeno y fósforo antropocénicos que propician florecimientos algales y fenómenos de eutrofización costera, reduciendo la cantidad de oxígeno disponible en el agua. Imagen obtenida de Malone & Newton, 2020.

Las zonas muertas, o con poco oxígeno, no son un fenómeno nuevo ni poco común, sin embargo, se ha visto que su expansión está cambiando. De hecho, existen 146 zonas muertas costeras en el mundo, y su número ha aumentado desde la década de 1960 (Dybas, 2005).

6.3 Contaminantes

Otro factor ambiental que afecta los ecosistemas marinos son los contaminantes. Existen varios tipos de contaminantes que influyen sobre la vida submarina, el más evidente es el plástico (Eriksen et al., 2014). Los plásticos son polímeros orgánicos sintéticos cuyo consumo ha aumentado gracias a su versatilidad, durabilidad y bajo costo (Derraik, 2002). Durante las últimas décadas del siglo XX, la tasa de deposición de plásticos en el medio ambiente marino superó la tasa de producción (Moore, 2008). Eriksen y colaboradores calcularon que existen 5.25 billones de partículas de plástico en el océano con un peso total de 268,940 toneladas (Eriksen et al., 2014). El 80% de los desechos humanos acumulados en las cosas son de origen plástico (Senko et al., 2020).

El problema de la contaminación plástica ha aumentado con el paso de los años y cada vez se encuentran más estos contaminantes en áreas remotas (Derraik, 2002). Más de 900 especies marinas han sido observadas interactuando con la contaminación por plásticos, siendo los más afectados aves, mamíferos marinos y tortugas (Senko et al., 2020). Además de que los plásticos que se acumulan en el sedimento pueden inhibir el intercambio de gases con las aguas superficiales y sofocar a los organismos bentónicos (Moore, 2008).

El mayor problema del plástico en animales es la ingesta de diferentes objetos y enmallamiento (Derraik, 2002). Los efectos que se han observado son muerte, daño al tracto gastrointestinal, inanición, malnutrición, la lesión física, la reducción de la movilidad y el estrés fisiológico (Senko et al., 2020). También, puede provocar fallas en el sistema inmune (REF). Varias especies de otáridos y fócidos se enredan en artes de pesca perdidas y a menudo mueren a causa de heridas crónicas y profundas (Butterworth, 2016). Los plásticos se clasifican en macro si es mayor a 5 mm y micro si su tamaño es menor (Moore, 2008).

El consumo de plástico y microplástico es muy preocupante ya que dependiendo de las sustancias colocadas en su fabricación podrían ser tóxicos y además absorben contaminantes hidrofóbicos (Moore, 2008). Pueden provocar disminución del estímulo alimentario, bloqueo de enzimas digestivas, baja en los niveles de hormonas esteroides, junto con retraso en la ovulación y fallo reproductivo (Derraik, 2002). De hecho, se ha visto que en megafauna, los plásticos ingeridos afectan tanto a su salud individual como a su capacidad reproductiva, y dada la producción y uso de plásticos en el mundo, la ingesta va en aumento (Senko et al., 2020). Se calcula que el 44% las especies de aves marinas ingieren plástico (Moore, 2008).

Pérez-Venegas y colaboradores monitorearon la presencia de microplásticos en las heces de 205 crías de pinnípedos en cinco ubicaciones diferentes en el sur del Océano Pacífico (Perez-Venegas et al., 2020). Ellos encontraron microplásticos en todas las colonias; en total, 68% de los excrementos analizados contenían fibras plásticas y la mayoría eran de color azul. Los investigadores confirmaron que el 81.5% de estas fibras venían de productos humanos y el 30% eran polímeros.

6.4 Red trófica

Todo lo antes mencionado en esta sección impacta a las redes tróficas de los diferentes ecosistemas marinos. El flujo de energía comienza con los productores (fitoplancton y macroalgas principalmente) (Doney et al., 2012). Se ha estudiado que el picoplancton (fitoplancton compuesto por organismos fotosintéticos menores a 2 μm como cianobacterias y diatomeas) pueden aportar el 60% de la productividad primaria en mar abierto mediante sus procesos fotosintéticos lo que los vuelve esenciales en todos los sistemas oceánicos (Johnson & Bif, 2021; Platt et al., 1983). Estos productores son ingeridos por consumidores primarios, luego intermedios y finalmente depredadores tope. Por lo tanto, todos los factores bióticos dependen directa o indirectamente de los integrantes de estas redes (Doney et al., 2012).

Los cambios ambientales impactan en diferentes niveles en esta cadena y los cambios o afecciones pueden ser de dos tipos: de depredadores hasta productores (“Top-down”) y de productores primarios hacia niveles más altos (“Bottom-up”) (Doney et al., 2012). Los pinnípedos, como depredadores de nivel trófico alto se ven influenciados por la disponibilidad de presas, lo cual define no solo el bienestar individual de los organismos, también la distribución de las especies, abundancia y aspectos como éxito reproductivo (Keith et al., 2016). Se ha estudiado que los mamíferos marinos y otros depredadores muestran una

reducción poblacional y se ve comprometida la supervivencia durante los años de baja productividad oceánica (Sydeman & Allen, 1999).

Actualmente el 50% de las marismas, el 35% de los manglares, el 30% de los arrecifes de coral y el 29% de las praderas marinas se han perdido o degradado (Jackson, 2010). Es lógico inferir que esto traerá cambios que están por verse en las redes bióticas del océano.

MATERIALES Y MÉTODO

1. Sitio de muestreo

Este estudio se basa en muestras sanguíneas colectadas de crías de elefante marino del Norte, nacidas en el archipiélago de San Benito, ubicado en la costa pacífica de Baja California. Este archipiélago está conformado por tres islas volcánicas: San Benito Norte, San Benito Sur y la isla del centro (Figura 4) localizadas en las siguientes coordenadas ($28^{\circ}18' 3000''$ N, $115^{\circ} 340' 0000''$ O) (Sujitha et al., 2020).

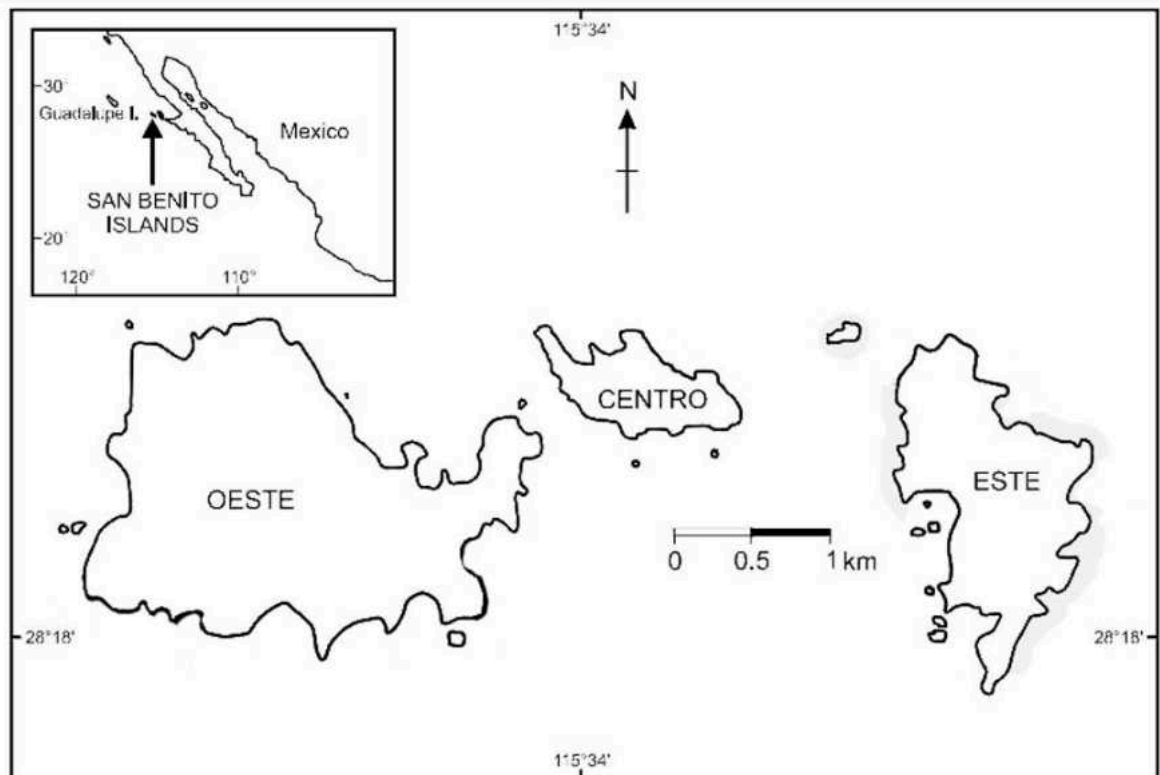


Figura 4. Mapa de las islas volcánicas que conforman el Archipiélago de San Benito (modificado de Aurióles-Gamboa et al., 2010).

San Benito está dentro de la Reserva de la Biosfera de las Islas del Pacífico de Baja California, la cual abarca $11,612 \text{ km}^2$ e incluye 6 archipiélagos, 21 islas y 97 islotes, los cuales han sido protegidos debido a su abundante diversidad (Sujitha et al., 2020). El archipiélago tiene una vegetación de matorral desértico marítimo, con lluvias escasas principalmente en verano. La temperatura del mar oscila entre 10 y 12°C y posee una salinidad de 33.9 (Sujitha et al., 2020).

En las islas se encuentran alrededor de 51 especies vegetales, de las cuales al menos 3 son endémicas y 6 insulares (Junak & Philbrick, 1999). Además, tiene cuatro especies de aves endémicas y una lagartija con la misma categoría (Sujitha et al., 2020). El ecosistema marino

es único ya que habitan cuatro especies de pinnípedos en simpatria: el elefante marino del Norte (*Mirounga angustirostris*), el lobo fino de Guadalupe (*Arctocephalus philippii townsendii*), el lobo marino de California (*Zalophus californianus*) y la foca de puerto (*Phoca vitulina*) (Aurióles-Gamboa et al., 2010; Elorriaga-Verplancken et al., 2015b).

El elefante marino del Norte no se alimenta en este sitio. Sin embargo, utiliza varias playas del archipiélago para sus procesos reproductivos y de muda. La reproducción se da en la temporada invernal y la muda durante el verano (Elorriaga-Verplancken et al., 2015).

2. Toma de muestras

Para este estudio se tomaron muestras de sangre de crías de elefante marino del Norte durante los años 2016, 2017, 2019, 2022 y 2023. Las muestras fueron tomadas en el mes de enero a crías recién destetadas que permanecían en las playas de San Benito, una vez que sus madres se hubieran ido. La captura de los individuos se dio en varias playas principalmente arenosas y de cantos rodados. Todos los años hubo un diagnóstico poblacional basado en observación sano, a excepción del año 2023 donde se encontró una cantidad elevada de crías muertas en las playas.

El muestreo de las crías consistió en la captura e inmovilización de los individuos. Se tomaron medidas de longitud total y diámetro a partir del ombligo, mediante una cinta métrica; se registró el grosor de la capa de grasa mediante un vernier (marca Mitutoyo) en la línea media a la altura del ombligo, como indicador de condición corporal. Los cachorros se sexaron y se obtuvieron muestras de sangre. Esta fue extraída de la vena intervertebral extradural con un sistema de vacío Vacutainer en tubos con EDTA (ácido etil endiaminotetra-acético) con el fin de evitar la coagulación. Dichos tubos fueron homogeneizados y almacenados en una hielera mientras se terminaban los muestreos del día. Algunas otras muestras biológicas fueron colectadas, no obstante, no conciernen a lo analizado en esta tesis.

El manejo se hizo en el tiempo mínimo y de la manera menos invasiva posible para evitar exceso de estrés en los animales. Una vez terminadas las pruebas, el equipo de trabajo se retiraba y la cría podía continuar con sus actividades o descanso.

Todos los muestreos, desde el 2016 al 2023, fueron aprobados por el comité de bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro y bajo los permisos de colecta de la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) y la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

Del tubo de sangre con EDTA se extrajeron 5 µl medidos con micropipeta y se colocaron en un portaobjetos un centímetro antes de la orilla superior. Con otra laminilla se expandió la sangre hacia la parte inferior con un movimiento de arrastre a 45° formando una lengua de gato (Corrons et al., 2004). El frotis sanguíneo resultante se fijó en metanol al 90% durante diez minutos y posteriormente fue almacenado en cajas de transporte para ser llevados al

Laboratorio de Ecoinmunología y Fisiología de la Conservación en la Universidad Autónoma de Querétaro.

Una vez en el laboratorio los frotis fueron teñidos con tinción de Romanowsky con el fin de poder observar diferencias entre eritrocitos y leucocitos y las características particulares de las células blancas. Cuando se corroboró que la tinción fue correcta las muestras se fijaron con resina y un cubreobjetos. A continuación, se almacenaron hasta su conteo.

Es importante mencionar que los procesos de muestreo, tinción y fijación fueron realizados por equipos de trabajo diferentes dependiendo del año de colecta, a diferencia de los conteos, que fueron todos realizados por la misma persona, quien es autora de esta tesis.

3. Conteos leucocitarios

El frotis sanguíneo está formado varias partes; resultado del arrastre del líquido. Las partes principales son cabeza, cuerpo y cola (Figura 5). La mejor zona para observar las células al microscopio es el cuerpo que es donde se extienden glóbulos blancos y rojos sin tocarse entre sí, formando una monocapa. Es ahí donde se deben hacer los conteos diferenciales y conteos de leucocitos totales (Houwen, 2002).

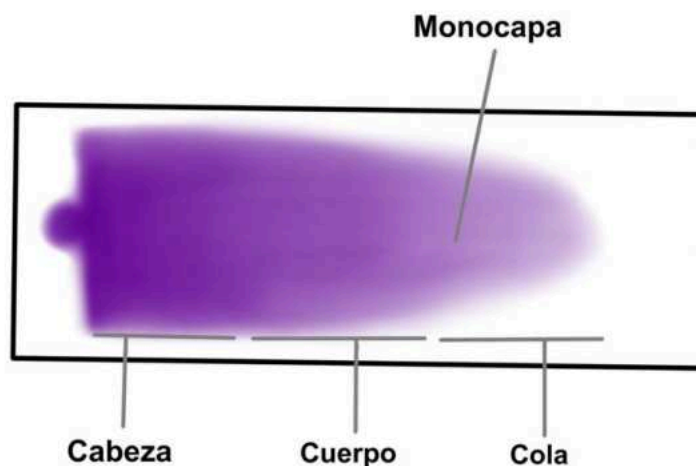


Figura 5. Partes de un frotis sanguíneo.

3.1 Conteos diferenciales

Para los conteos diferenciales se utilizó un microscopio óptico a 100x de aumento. Se observaron los leucocitos presentes y se anotó de que tipo celular se trataba. Para evitar contar células que ya habían sido contadas, se viajó a lo largo del frotis en forma de zigzag hasta alcanzar 100 células (Figura 6).

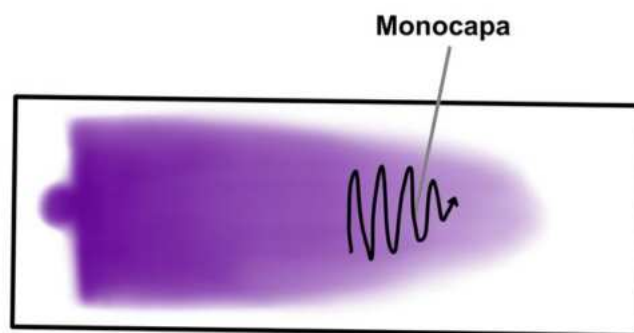


Figura 6. Dirección del escaneo para los conteos diferenciales.

Las categorías de los leucocitos fueron las siguientes:

- Linfocitos normales
- linfocitos reactivos
- linfocitos binucleados
- linfocitos en mitosis
- linfocitos apoptóticos
- linfocitos vacuolados
- linfocitos granulares gigantes (LGL)
- linfocitos granulados
- linfocitos atípicos
- monocitos
- monocitos reactivos
- monocitos atípicos
- metamielocitos
- neutrófilos en banda
- neutrófilos hiposegmentados
- neutrófilos segmentados
- neutrófilos hipersegmentados
- neutrófilos vacuolados
- neutrófilos apoptóticos
- neutrófilos con granulaciones tóxicas
- neutrófilos con cuerpos de Barr
- neutrófilos atípicos
- basófilos
- eosinófilos

Adicionalmente se hizo un resumen donde por cada individuo se determinaban neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos totales.

Para los análisis todas las variantes atípicas se unieron en una sola categoría por célula. Los grupos finales fueron los siguientes:

- Leucocitos totales
- Relación neutrófilo linfocito
- Neutrófilos totales
- Neutrófilos inmaduros
- Neutrófilos maduros
- Neutrófilos atípicos
- Linfocitos totales
- Linfocitos reactivos
- Linfocitos atípicos
- Monocitos normales
- Monocitos reactivos
- Monocitos atípicos
- Basófilos
- Eosinófilos
- Índice clínico

3.2 Conteo de leucocitos totales

Para realizar el conteo de leucocitos totales (WBC) se contaron todos los glóbulos blancos observados en tres campos a 10x. Para poder contar las células a esa resolución se tomaron fotos con la cámara de un celular con alta resolución de los campos a 10x, dichas fotos se transfirieron a una PC en donde se le aumentó el contraste para ver con más claridad los leucocitos. Se utilizó el programa ImageJ con la función “multi-point” para marcar las células y evitar conteos duplicados. Una vez obtenido el número total se promedió con los otros campos (3 en total), el promedio se multiplicó por 1500 (Katsogiannou et al., 2020; Petamidis et al., 2017; Weiss & Wardrop, 2010). Este ajuste da un estimado del número total de leucocitos en el organismo (eWBC). La fórmula se muestra a continuación:

$$eWBC = (\text{Promedio del conteo en tres campos a } 10X) \times (1,500)$$

Con este dato y las proporciones obtenidas en los conteos diferenciales es posible determinar la proporción que representa cada tipo celular por μl .

Katsogiannou y colaboradores mencionan que en este ajuste el promedio se hace con observaciones a campos de 10x a 40x. Petamidis y colaboradores y Weiss y Wardrop también mencionan que a 40x. sin embargo los conteos a 10x difieren bastante en las diferentes escalas de observación, por lo que se realizó un ajuste. Todos los valores fueron divididos entre 20, de esta manera, concordaron con la magnitud de célula/ μl presente en los valores de referencia de (Gulland et al., 2018).

En total se analizó la sangre de 134 crías de elefante marino durante el periodo 2016-2023 distribuidas como es muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3: Muestras analizadas

Año	Número de elefantes	Machos	Hembras	No identificado
2016	25	10	15	
2017	39	19	20	
2019	6	5	1	
2022	36	18	17	1
2023	28	13	15	

El conteo de leucocitos totales sirvió para transformar los conteos diferenciales en unidades de célula por μl , basándonos en la premisa de que, al contar 100 células en conteos diferenciales, se obtiene un porcentaje. El WBC es el total de células por μl y se hizo la conversión.

Para los análisis todas las variantes celulares atípicas se unieron en un solo grupo (neutrófilos atípicos y linfocitos atípicos, monocitos atípicos). Adicionalmente, se dividió a los neutrófilos en maduros e inmaduros.

4. Índice clínico

Tomando los valores de referencia de (Gulland et al., 2018) para crías rehabilitadas se determinó si las crías muestreadas en el archipiélago de San Benito tenían alguna de las siguientes anomalías:

- Leucocitosis
- Leucopenia
- Neutrofilia
- Neutropenia
- Linfocitosis
- Linfopenia
- Monocitosis
- Monocitopenia
- Eosinofilia
- Eosinopenia
- Basofilia

En el caso de salir del rango esperado se colocaba un “1” y si estaba dentro de lo normal un “0”. Se hizo la sumatoria de anomalías por animal y de esta manera se obtuvo un índice clínico donde 0 representa a un individuo completamente sano (al menos dentro de los parámetros leucocitarios propuestos por Gulland et al. 2018) y 11 sería una foca que tiene todos los valores alterados, por lo que se consideraría la máxima expresión de la enfermedad clínica.

5. Análisis estadísticos

Se construyeron hicieron gráficas de Cullen-Frey para determinar la distribución de los datos. La mayoría de las distribuciones de las variables eran lognormal o Beta, por lo que fue necesario realizar una transformación logarítmica o construir modelos generalizados lineales para desafiar las hipótesis de la tesis. Finalmente, se determinó la significancia de los modelos mediante la prueba de Chi cuadrada. Para los análisis se utilizó el programa R (v 4.1.1). Las figuras se construyeron en el lenguaje de programación de R. Se utilizaron los paquetes de fitdistrplus, MASS y ggplot2.

RESULTADOS

1. Distribución de los datos

Los leucocitos totales tuvieron una distribución de tipo lognormal (Figura 7A), al igual que los neutrófilos totales (Figura 7B), linfocitos totales (Figura 7C), eosinófilos (Figura 7D), linfocitos reactivos y neutrófilos maduros (Figura 7F).

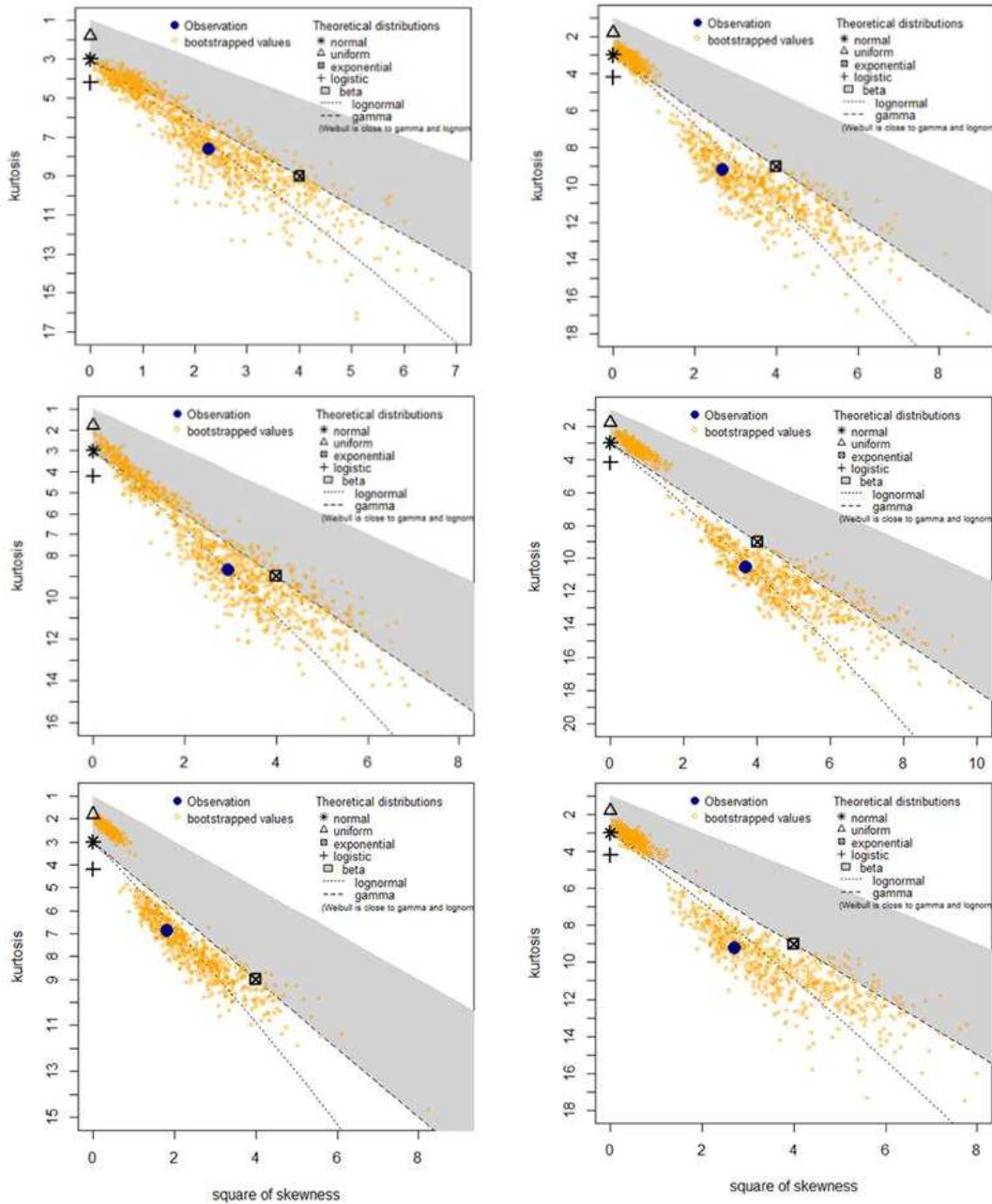


Figura 7: Distribución de variables con distribución log Normal. A) Conteo de leucocitos totales. B) Conteo de neutrófilos totales. C) Conteo de neutrófilos totales. D) Conteo de eosinófilos. E) Conteo de linfocitos reactivos. F) Conteo de neutrófilos maduros.

Algunos conteos tuvieron distribución beta, como los monocitos totales (Figura 8A), basófilos (Figura 8B), neutrófilos inmaduros (Figura 8C), neutrófilos atípicos (Figura 8D), linfocitos atípicos (Figura 8E), monocitos normales (Figura 8F), monocitos atípicos (Figura 8G) y linfocitos normales (Figura 8H).

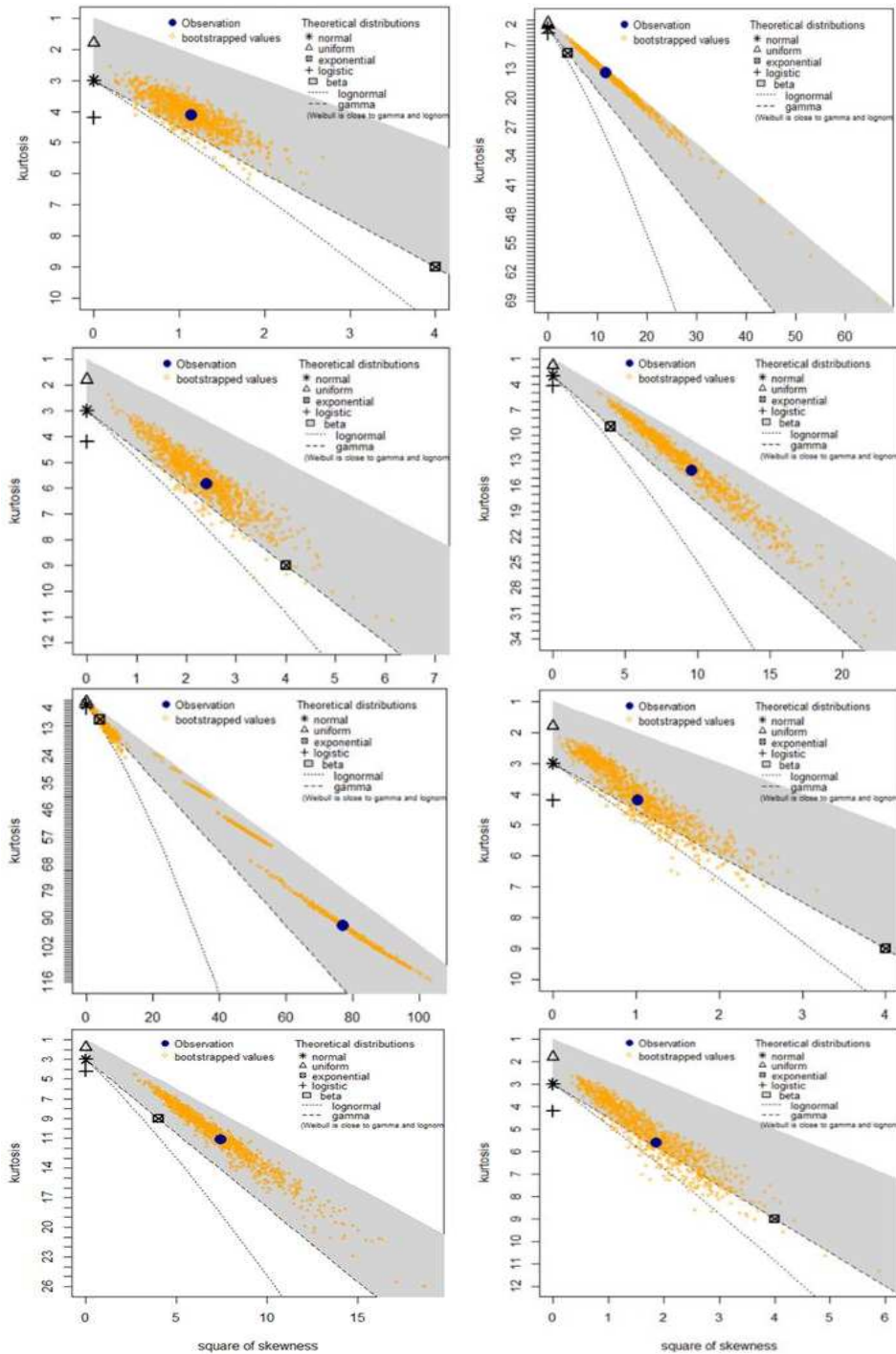


Figura 8: Distribución de variables con distribución tipo Beta. A) monocitos totales. B) basófilos. C) neutrófilos inmaduros. D) neutrófilos atípicos. E) linfocitos atípicos. F) monocitos normales, G) monocitos atípicos. H) linfocitos normales.

La relación neutrófilo:linfocito (NLR) fue lognormal (Figura 9A), mientras que el índice clínico tuvo una distribución beta (Figura 9B).

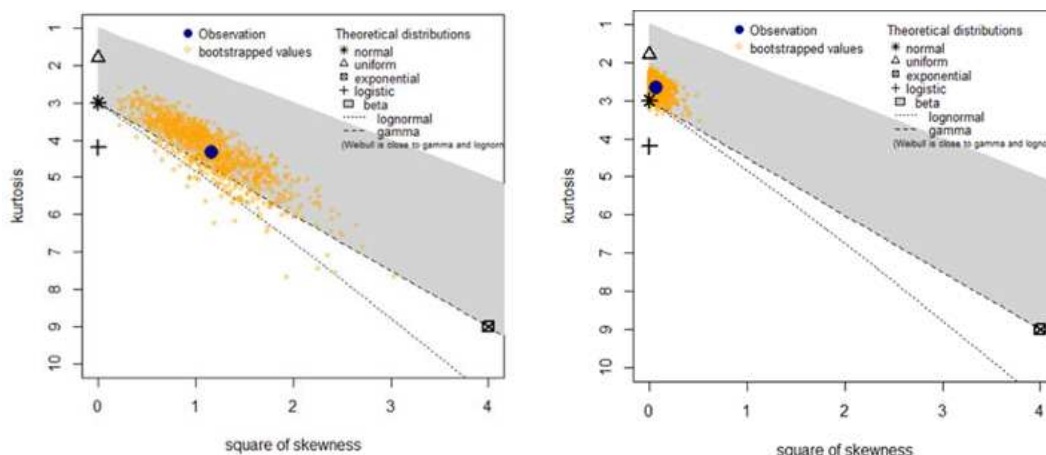


Figura 9. Distribución de parámetros clínicos. A) Relación neutrófilo:linfocito. B) Índice clínico de los cachorros de elefante marino del Norte.

2. Resumen de parámetros leucocitarios esperados según (Gulland et al., 2018) y parámetros obtenidos en esta tesis

Cuadro 4: Resumen de parámetros leucocitarios obtenidos y comparación con valores esperados obtenidos de (Gulland et al., 2018)

	Media	Mediana	Desviación estándar	Valor de referencia
Conteo de leucocitos totales	11,387.59	11,025	4,446.29	11,200-29,600
Neutrófilos maduros	5,279.02	4,907.5	2,362.91	7,176-20,714
Neutrófilos inmaduros	455.02	341.25	427.53	0-527
linfocitos	4,042.78	3,780.5	1,972.82	2,385-7,630
Monocitos	915.15	767.5	633.85	400-3,400
Eosinófilos	687.04	580.62	533.45	100-795
Basófilos	9.63	0	33.34	0-160

Con la metodología realizada se pueden comparar los valores de referencia de Gulland et al., 2018 y los obtenidos en los muestreos desde 2016 a 2023. En general los parámetros leucocitarios están dentro del rango normal a excepción de neutrófilos maduros, que en promedio tiene un valor más bajo que el mínimo normal esperado.

Además de las células analizadas se observó la presencia de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs por sus siglas en inglés. Estas trampas son formadas por cromatina extracelular de neutrófilos que mueren y son importantes para protección contra patógenos e inflamación (Papayannopoulos, 2018). Estas redes fueron encontradas en varias muestras a lo largo de los años. Sin embargo, eran mucho mas abundantes y extensas en las muestras de 2023. Su estudio y análisis estadísticos podrían realizarse en el futuro.

3. Variación interanual en los parámetros leucocitarios

Se desafió la siguiente hipótesis: Existen diferencias en las poblaciones de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del norte según el año de muestreo.

No todas las poblaciones leucocitarias se comportaron de la misma manera entre los años de muestreo. los leucocitos totales mostraron diferencias interanuales (GLM, $t=-2.757$, $gl:133$, $p=0.00665$; Figura 10 A), al igual que los conteos de monocitos totales (GLM, $t=-4.975$, $gl:133$, $p=1.99e-06$; Figura 10B), neutrófilos inmaduros (GLM, $t=-2.723$, $gl:133$, $p=0.00734$; Figura 10C), linfocitos normales (GLM, $t=-3.134$, $gl:133$, $p=0.00213$; Figura 10D), linfocitos atípicos (GLM, $t=3.926$, $gl:133$, $p=0.000139$; Figura 10E) monocitos normales (GLM, $t=-2.116$, $gl:133$, $p=0.0362$; Figura 10F). y monocitos atípicos (GLM, $t=-5.229$, $gl:133$, $p=6.50e-07$; Figura 10G). También varió significativamente el índice clínico entre 2016-2023 (GLM, $t=3.057$, $gl:133$, $p=0.00271$; Figura 10H).

No se encontraron diferencias significativas internuales en la relación neutrófilo linfocito (GLM, $t=-0.131$, $gl:133$, $p=0.896$), neutrófilos totales (GLM, $t=-1.1724$, $gl:133$, $p=0.0870$), linfocitos totales (GLM, $t=-1.735$, $gl:133$, $p=0.0851$), eosinófilos totales (GLM, $t=-0.128$, $gl:133$, $p=0.899$), basófilos totales (GLM, $t=0.194$, $gl:133$, $p=0.847$), neutrófilos maduros (GLM, $t=-1.354$, $gl:133$, $p=0.1779$), neutrófilos atípicos (GLM, $t=-1.570$, $gl:133$, $p=0.119$) y linfocitos reactivos (GLM, $t=1.275$, $gl:133$, $p=0.204$).

También, el índice clínico de los cachorros varió entre los años de muestreo. (GLM, $t=1.525$, $gl:131$, $p=0.001405$; Figura 11). Estas diferencias no fueron explicadas por el sexo de las crías. (GLM, $t=1.213$, $gl:132$, $p=0.741232$) ni se encontró evidencia de una interacción entre el año y el sexo para explicar la variación en el índice clínico (GLM, $t=1.213$, $gl:132$, $p=0.227$), a pesar de lo que parecía una tendencia (ver Figura 11).

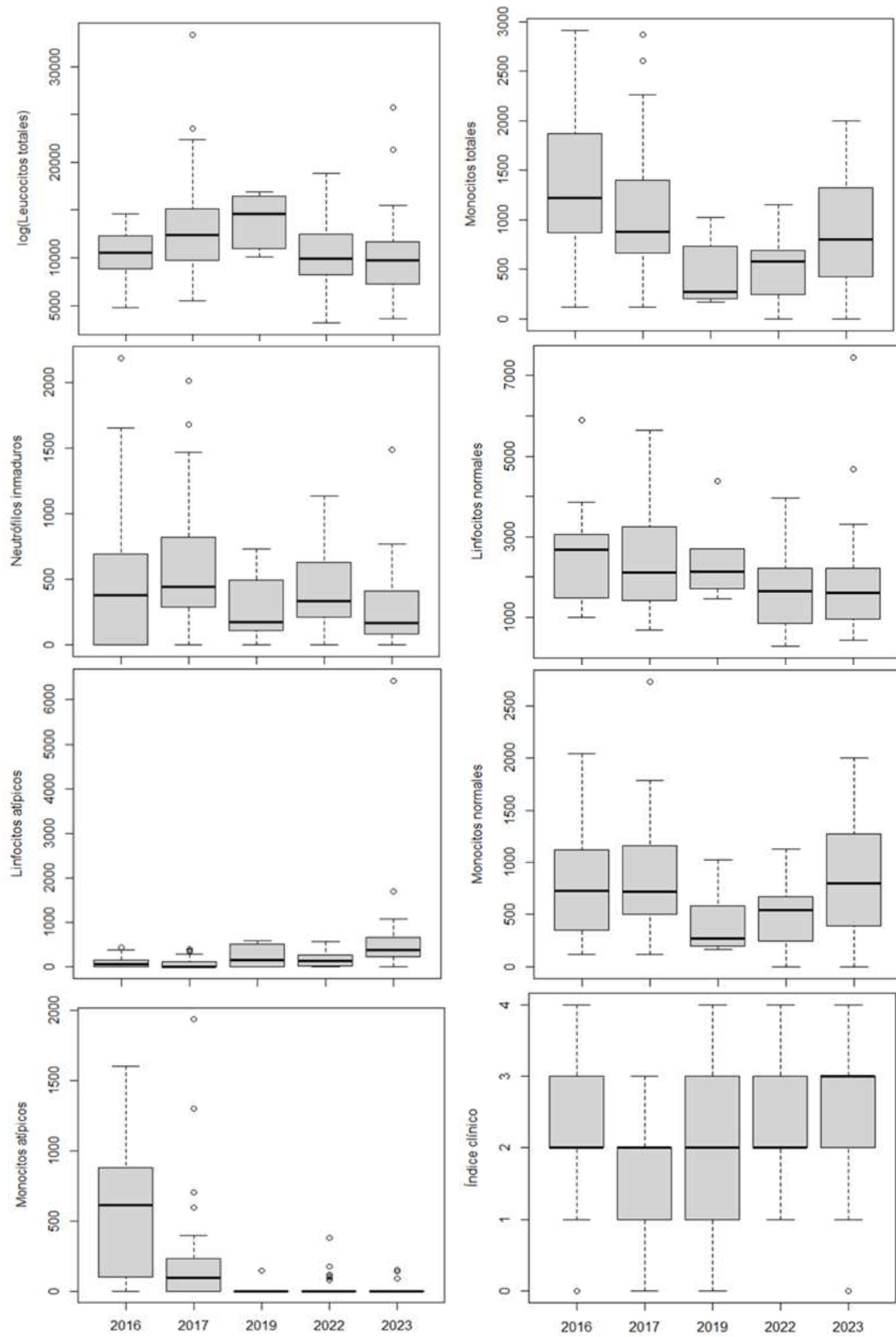


Figura 10. Variación interanual (2016 a 2023) en parámetros leucocitarios e índice clínico de los cachorros de elefante marino del Norte.

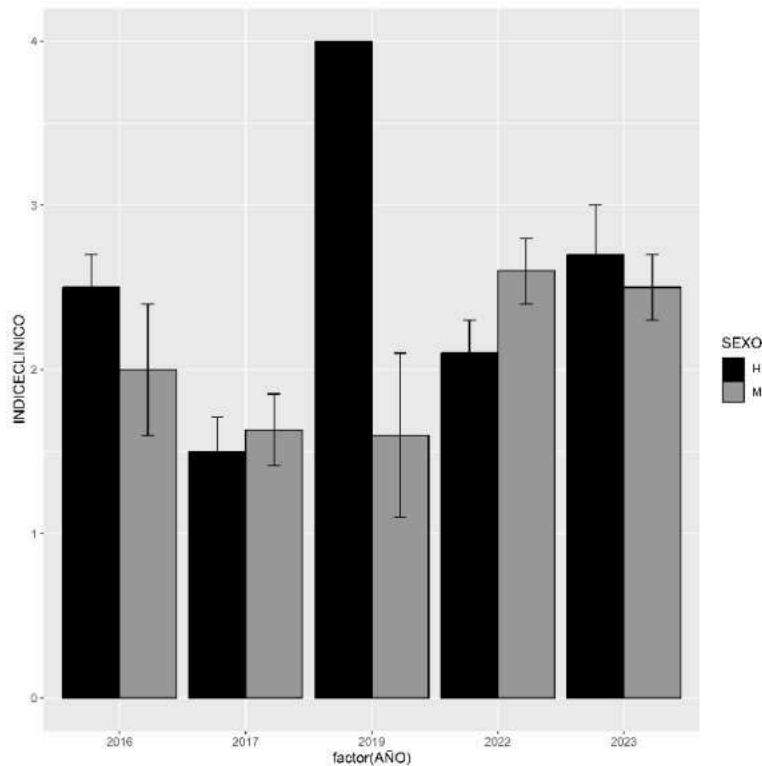


Figura 11. Variación anual del índice clínico considerando el sexo de las crías entre los años 2016-2023.

4. Diferencias en los parámetros leucocitarios entre sexos

Se desafió la siguiente hipótesis: Los valores de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte son diferentes entre sexos.

No se encontró evidencia de diferencias significativas en ninguno de los parámetros leucocitarios analizados: leucocitos totales (GLM, $t=-1.022$, $gl:132$, $p=0.309$),

relación neutrófilo:linfocito (GLM, $t=1.373$, $gl:132$, $p=0.172$), neutrófilos totales (GLM, $t=-0.131$, $gl:132$, $p=0.896$), linfocitos totales (GLM, $t=-1.41$, $gl:132$, $p=0.161$), monocitos totales (GLM, $t=-1.046$, $gl:132$, $p=0.297$), eosinófilos totales (GLM, $t=-0.128$, $gl:132$, $p=0.899$), basófilos totales (GLM, $t=-0.115$, $gl:132$, $p=0.909$), neutrófilos maduros (GLM, $t=-0.148$, $gl:132$, $p=0.883$), neutrófilos inmaduros (GLM, $t=-0.211$, $gl:132$, $p=0.833$), neutrófilos atípicos (GLM, $t=-1.350$, $gl:132$, $p=0.179$) linfocitos normales (GLM, $t=-0.909$, $gl:132$, $p=0.365$), linfocitos reactivos (GLM, $t=1.275$, $gl:132$, $p=0.204$), linfocitos atípicos (GLM, $t=0.847$, $gl:132$, $p=0.399$), monocitos normales (GLM, $t=-0.032$, $gl:132$, $p=0.975$), monocitos atípicos (GLM, $t=-1.901$, $gl:132$, $p=0.595$) ni en el índice clínico (GLM, $t=-0.211$, $gl:132$, $p=0.833$).

5. Medidas morfológicas

Se desafió la siguiente hipótesis 3. Los valores de leucocitos circulantes de las crías de elefante marino del Norte cambian de acuerdo con las medidas morfológicas de los animales.

5.1 Longitud total

La longitud total de las crías se relacionó significativamente con el conteo de basófilos en sangre (GLM, $t=-3.069$, $gl:133$, $p=0.00271$; Figura 12A), y la misma tendencia se observó para los neutrófilos inmaduros (GLM, $t=-2.082$, $gl:133$, $p=0.0397$; Figura 12B).

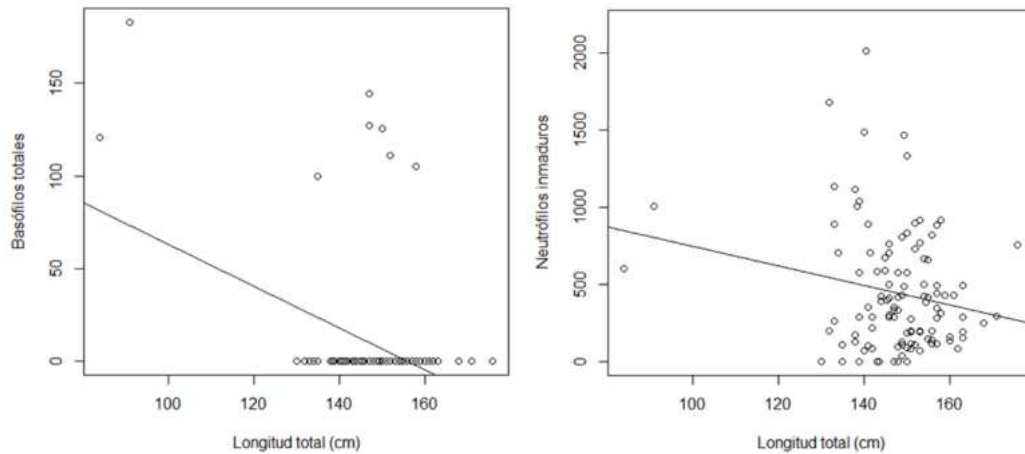


Figura 12. Variación de leucocitos en relación con la longitud total de las crías del elefante marino del Norte. A) Basófilos totales. B) Neutrófilos inmaduros

No se encontraron diferencias significativas en los demás parámetros analizados: leucocitos totales (GLM, $t=-0.755$, $gl:133$, $p=0.452$), relación neutrófilo linfocito (GLM, $t=-0.570$, $gl:133$, $p=0.570$), neutrófilos totales (GLM, $t=0.801$, $gl:133$, $p=0.425$), linfocitos totales (GLM, $t=-0.866$, $gl:133$, $p=0.378$), monocitos totales total de las crías (GLM, $t=-0.128$, $gl:133$, $p=0.899$), eosinófilos totales (GLM, $t=-0.045167$, $gl:133$, $p=0.899$), neutrófilos maduros (GLM, $t=1.216$, $gl:133$, $p=0.227$), neutrófilos inmaduros (GLM, $t=-2.082$, $gl:133$, $p=0.0397$), neutrófilos atípicos (GLM, $t=-0.816$, $gl:133$, $p=0.416$), linfocitos normales (GLM, $t=-0.574$, $gl:133$, $p=0.567$), linfocitos reactivos (GLM, $t=1.275$, $gl:133$, $p=0.204$), linfocitos atípicos (GLM, $t=0.$, $gl:133$, $p=0.444$), monocitos normales (GLM, $t=1.361$, $gl:133$, $p=0.1763$), monocitos atípicos (GLM, $t=-1.106$, $gl:133$, $p=0.271$) ni el índice clínico respecto (GLM, $t=-1.479$, $gl:133$, $p=0.142$).

5.2 Diámetro umbilical

Los monocitos totales variaron con respecto al diámetro umbilical de las crías (GLM, $t=2.507$, $gl:133$, $p=0.013771$; Figura 13A). Lo mismo se observó para los monocitos normales (GLM, $t=-$

2.469, $gl:133$, $p=0.0152$; Figura 13B), eosinófilos totales (GLM, $t=-2.882$, $gl:133$, $p=0.00482$; Figura 13C), e índice clínico (GLM, $t=-2.970$, $gl:133$, $p=0.00371$; Figura 13D).

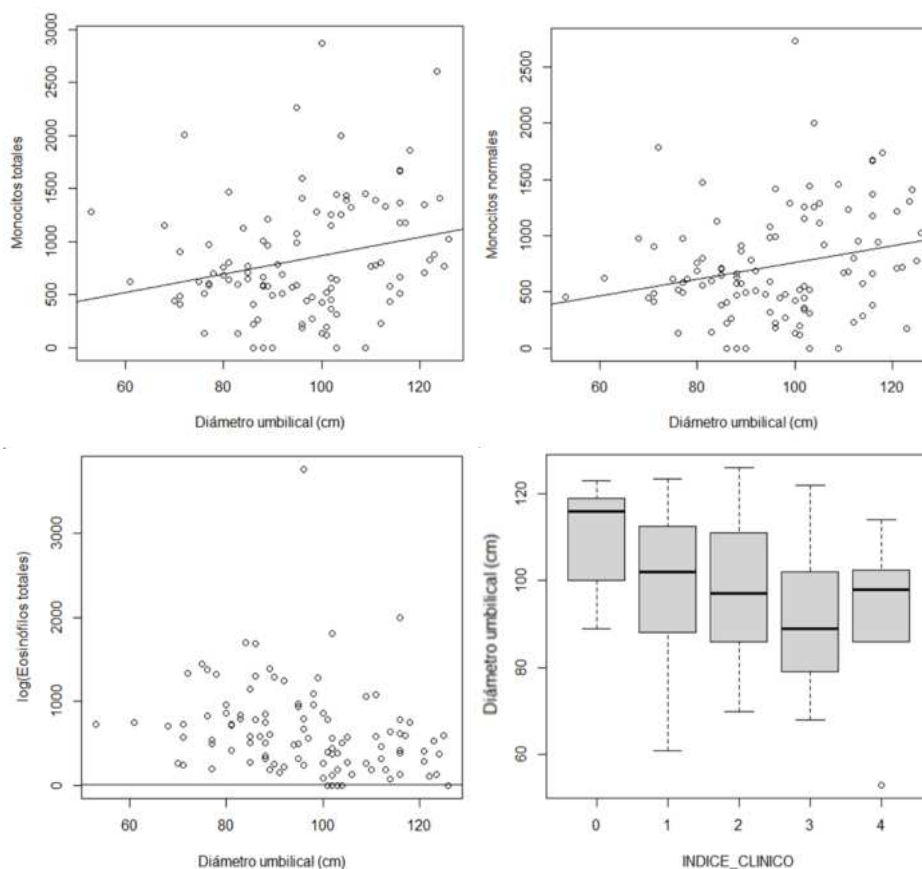


Figura 13. Variación de parámetros leucocitarios en relación al diámetro umbilical de los cachorros de elefante marino del Norte. A) Monocitos totales. B) Monocitos normales. C) Eosinófilos totales. D) Índice clínico.

En contraste, no se encontró evidencia de una asociación con el diámetro umbilical y los leucocitos totales (GLM, $t=1.699$, $gl:133$, $p=0.0925$), relación neutrófilo:linfocito (GLM, $t=-0.468$, $gl:133$, $p=0.0641$), neutrófilos totales (GLM, $t=1.839$, $gl:133$, $p=0.0689$), linfocitos totales (GLM, $t=1.782$, $gl:133$, $p=0.0778$), basófilos totales (GLM, $t=-1.547$, $gl:133$, $p=0.125$), neutrófilos maduros (GLM, $t=1.92$, $gl:133$, $p=0.0576$), neutrófilos inmaduros (GLM, $t=0.395$, $gl:133$, $p=0.6937$), neutrófilos atípicos (GLM, $t=-0.430$, $gl:133$, $p=0.6682$), linfocitos normales (GLM, $t=1.698$, $gl:133$, $p=0.092606$), linfocitos atípicos (GLM, $t=0.511$, $gl:133$, $p=0.6108$), linfocitos reactivos (GLM, $t=1.07$, $gl:133$, $p=0.287$) y monocitos atípicos (GLM, $t=0.729$, $gl:133$, $p=0.4678$).

5.3 Efecto de la condición corporal en los parámetros leucocitarios

Se desafió la siguiente hipótesis: La condición corporal de las crías del elefante marino del norte se relaciona con los leucocitos circulantes. El conteo de leucocitos totales varió con

respecto a la condición corporal de las crías (GLM, $t=-2.398$, $gl:133$, $p=0.0182$; Figura 14A), al igual que los neutrófilos totales (GLM, $t=-2.011$, $gl:133$, $p=0.0469$; Figura 14B), monocitos totales (GLM, $t=-2.204$, $gl:133$, $p=0.0297$; Figura 14C), basófilos totales (GLM, $t=2.640$, $gl:133$, $p=0.00954$; Figura 14D), linfocitos atípicos (GLM, $t=4.336$, $gl:133$, $p=3.29e-05$; Figura 14E),

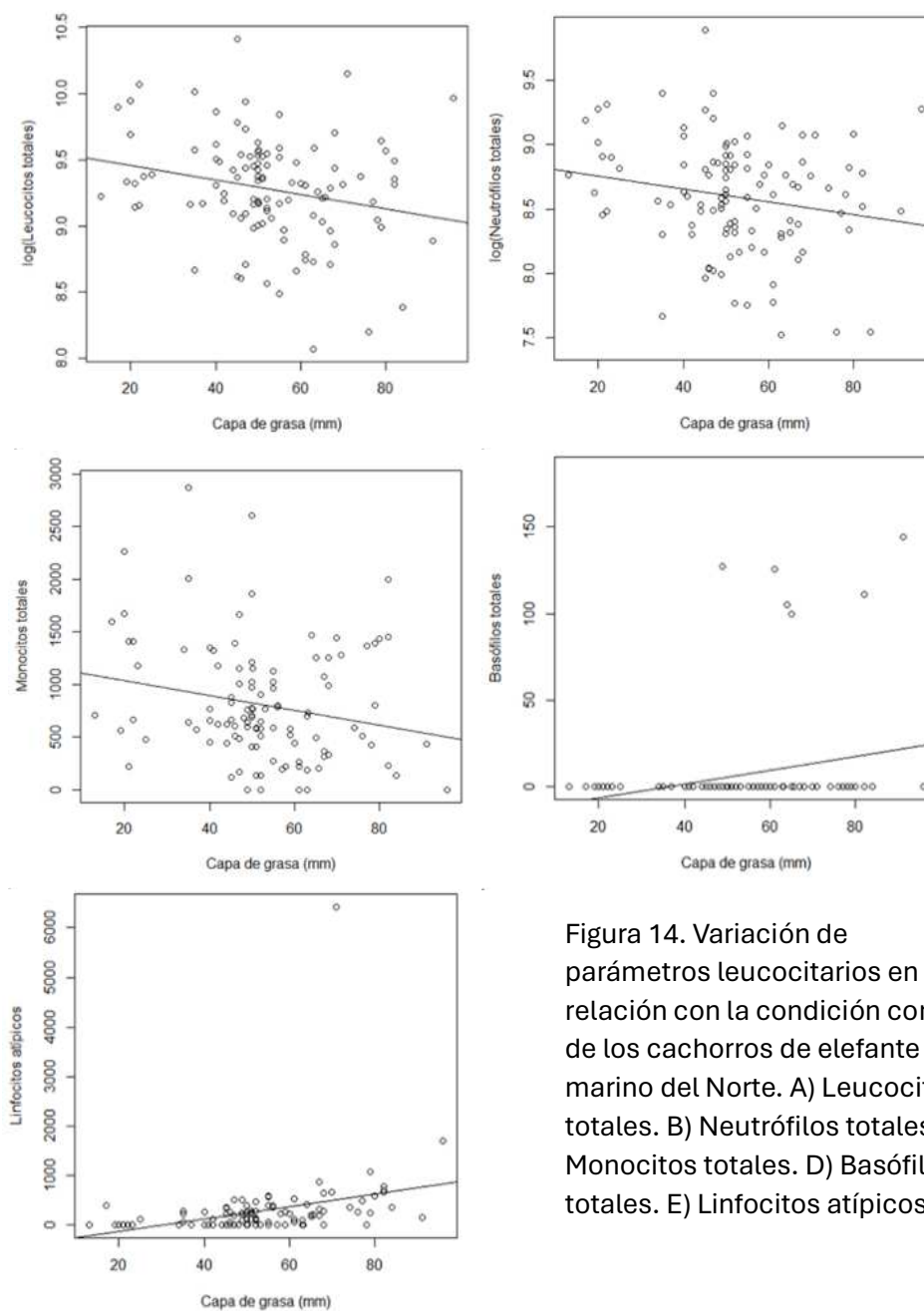


Figura 14. Variación de parámetros leucocitarios en relación con la condición corporal de los cachorros de elefante marino del Norte. A) Leucocitos totales. B) Neutrófilos totales. C) Monocitos totales. D) Basófilos totales. E) Linfocitos atípicos.

En contraste, no se encontró una asociación significativa entre la condición corporal y la relación neutrófilo:linfocito (GLM, $t=-0.003$, $gl:133$, $p=0.09980$), linfocitos totales (GLM, $t=-1.838$, $gl:133$, $p=0.0688$), eosinófilos totales (GLM, $t=-0.128$, $gl:133$, $p=0.899$), neutrófilos

maduros (GLM, $t=-1.796$, $gl:133$, $p=0.0797$), neutrófilos inmaduros (GLM, $t=-1.733$, $gl:133$, $p=0.0859$), neutrófilos atípicos (GLM, $t=-0.334$, $gl:133$, $p=0.739$), linfocitos normales (GLM, $t=-1.203$, $gl:133$, $p=0.2317$), linfocitos reactivos (GLM, $t=0.04230$, $gl:133$, $p=0.204$), monocitos normales (GLM, $t=-0.959$, $gl:133$, $p=0.3399$), monocitos atípicos (GLM, $t=-1.901$, $gl:133$, $p=0.0595$) e índice clínico (GLM, $t=-0.211$, $gl:133$, $p=0.833$).

DISCUSIÓN

1. Variación interanual en los parámetros leucocitarios

La primera hipótesis a desafiar era que existen diferencias en las poblaciones de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte según el año de muestreo. Esta hipótesis fue aceptada para las categorías de índice clínico, leucocitos totales, monocitos totales, neutrófilos inmaduros, linfocitos normales y atípicos y monocitos normales y atípicos. El resto de las categorías no variaron significativamente entre años.

1.1 Índice clínico

Como se muestra en resultados, el índice clínico es significativamente diferente entre años, esto quiere decir que la salud de las crías de *M. angustirostris* en el archipiélago de San Benito varía a lo largo del tiempo. Hay años, como 2016, 2022 y especialmente 2023 donde la tendencia es hacia anomalías en los parámetros sanguíneos. Mientras que el resto de los años tienden a tener solo una o dos variantes leucocitarias.

En el año se observó una cantidad elevada de crías muertas en el Archipiélago de San Benito en comparación con lo observado en años anteriores (K. Acevedo-Whitehouse, datos no publicados). La elevación en el índice clínico en 2023 concuerda con el diagnóstico poblacional por observación. Sin embargo, es necesario estudiar a profundidad los fenómenos ocurridos en ese año o durante los periodos de gestación de las crías, así como otros parámetros de diagnóstico clínico para conocer la causa de estos problemas. También sería relevante estudiar si estas anomalías tienen un origen de largo plazo y si los valores elevados del índice clínico en 2022, que también están elevados, se relacionan.

Con la información disponible al momento, solo es posible especular acerca de las posibles causas de las variaciones observadas. Primero, es posible que los cachorros con índice clínico alterado hayan sido expuestos a metales pesados. El mercurio es un metal pesado que se bioacumula a través de la cadena trófica y las hembras de elefante marino lo ingieren durante el forrajeo de presas meso pelágicas (Peterson et al., 2024). En general los mamíferos marinos son los organismos que más contaminantes bioacumulan debido a su alto nivel trófico (Desforges et al., 2016). El mercurio se transfiere de madres a crías durante la gestación y especialmente en la lactancia vía leche materna y la cantidad transferida se relaciona con la edad materna y los comportamientos de alimentación (Peterson et al., 2024). Cuando se da la transferencia, las crías nacen ya con una carga de mercurio que puede tener repercusiones fisiológicas como inmunotoxicidad (Desforges et al., 2016), desregulaciones endócrinas y reproductivas (Tan et al., 2009) y neurotoxicidad (Basu et al., 2009). Peterson y colaboradores también encontraron que había variabilidad interanual de las concentraciones de mercurio en las crías. Por lo tanto, es posible que el mercurio en las redes tróficas varía entre años. No se cuenta con datos sobre concentración de mercurio en los animales incluidos en el estudio, ni hay datos recientes sobre la concentración de mercurio en la zona de estudio, por lo que se especula que, de estar presente, podría ocasionar alteraciones inmunológicas en los cachorros e influenciar la salud de las crías de *M. angustirostris* del archipiélago de San Benito. Se sabe que las últimas décadas las concentraciones de este metal han aumentado en el

pacífico norte (Braune et al., 2015) y esto puede llegar a los mamíferos marinos migratorios como el elefante marino del Norte.

Se esperaría que, al ver la colonia sana, la mayoría de crías presentara un índice clínico de cero; es decir, no tener parámetros leucocitarios alterados. Sin embargo, el promedio de los neutrófilos maduros de los elefantes marinos muestreados en el archipiélago de San Benito, fueron menores a los valores de referencia (Gulland et al., 2018). Debido a esto, la mayoría de los animales tienen al menos una anomalía en sus parámetros leucocitarios (neutropenia). Esto podría tener varias explicaciones:

La primera, es que la mayoría de crías muestreadas durante 2016-2016 realmente tuvieron neutropenia. La neutropenia está típicamente asociada a problemas en los precursores hematopoyéticos, aunque la causa exacta es difícil de determinar (Dale & Hammond, 1988). La falta de nutrientes, enfermedades autoinmunes, algunos tipos de cáncer e infecciones pueden detonar neutropenia (Frater, 2020). Sin embargo, todas estas condiciones impactan a varios parámetros leucocitarios ya que son procesos complejos de enfermedad. Por lo tanto, es poco probable que la mayoría los cachorros tuviera alguna condición de enfermedad si solo presentan neutrófilos bajos.

Por otro lado, estudios en otros pinnípedos del Pacífico Norte, como el lobo marino de Steller, han reportado que el número de leucocitos totales baja conforme la edad del cachorro aumenta, mientras el sistema inmunológico se desarrolla por completo (Keogh et al., 2010). Aunque los autores mencionan que en fócidos este desarrollo es más rápido, Hall y colaboradores reportaron que en el elefante marino del Sur y la foca gris los leucocitos totales, neutrófilos y linfocitos aumentan después de los 15 días de nacimiento y posteriormente comienzan a disminuir (Hall et al., 2003).

Otra posible explicación es que los elefantes marinos que se reproducen en el Archipiélago de San Benito tengan un valor de normal diferente al de los animales que fueron estudiados para determinar los valores de referencia de la especie (Gulland et al. 2018). Las 100 crías que fueron utilizadas para ese propósito eran crías que habían sido rehabilitadas médicamente (Gulland et al., 2018) en un centro veterinario, mientras que las crías de la presente tesis eran de vida libre, lo que puede ser un factor que marque las diferencias observadas.

En humanos, se sabe que la leucopenia, que está asociada a neutropenia, no es necesariamente un signo de enfermedad y puede estar asociada a grupos étnicos (Shaheen et al., 2022). Shaheen y colaboradores (2022) encontraron diferencias significativas en el conteo de leucocitos totales y de basófilos entre personas de regiones diferentes de Arabia Saudita. Ellos encontraron neutropenia benigna en varios individuos dentro del estudio y se propone que puede ser por factores genéticos, y no por enfermedad. La leucopenia asociada a neutropenia como una característica étnica fue descrita por primera vez en humanos por (Forbes et al., 1941). A partir de esa fecha la leucopenia étnica se ha confirmado por diversos estudios (Haddy et al., 1999). Incluso se han reportado estos fenómenos de neutropenia asociados a distintas condiciones ambientales y genéticas (Alkhalidy et al., 2020; Awan et al., 2021; Saxena & Wong, 1990; Shaheen et al., 2022). Alkhalidy y colaboradores reportaron diferencias en los conteos de neutrófilos asociados a condiciones ambientales como altitud de Arabia Saudita. Se sabe que la neutropenia, en ciertos grupos no aumenta la susceptibilidad

a infecciones, de hecho, estudios en neutrófilos muestran una morfología y expresión génica normales (Atallah-Yunes et al., 2019).

En el caso de *M. angustirostris*, tiene una distribución geográfica relativamente amplia que abarca las costas de California, EUA hasta la mitad de la península de Baja California, México. Las condiciones ambientales como altitud no tienen influencia para esta especie ya que las islas donde se reproducen los elefantes, tanto en Estados Unidos como en México están a nivel del mar. Sin embargo, si hay algunos factores que podrían ser distintos entre sitios de reproducción. Pero más allá de las condiciones ambientales, la genética podría ser el punto clave para esta discrepancia entre los valores obtenidos en este estudio y los reportados en Gulland et al., 2018.

La caza intensiva de elefantes marinos de Norte mermó las poblaciones llevándolas a números críticos en la década de los ochenta (Würsig et al., 2018). Con el tiempo, el número de individuos ha ido aumentando. De manera normal estos animales son filopátricos (Le Boeuf et al., 2019), lo que quiere decir que las hembras vuelven cada año a la misma playa en la que nacieron para parir (Cooper & Stewart, 1983; Le Boeuf et al., 2019). Aunque se dio una recolonización de elefantes marinos del Norte hacia aguas mexicanas cuando las poblaciones comenzaron a aumentar (Cooper & Stewart, 1983), las colonias reproductivas están bastante definidas por la filopatría (Le Boeuf et al., 2019).

Cuando se separa un grupo de individuos por fenómenos migratorios o vicarianza, se generan diferencias genéticas sutiles entre los grupos por el aislamiento reproductivo de forma paulatina, a lo largo de muchos años, lo que puede ocasionar especiación (Oliver et al., 2014). Es posible que los parámetros normales de neutrófilos difieran entre las poblaciones mexicanas y estadounidenses por la distancia geográfica. Si esto fuera así, el índice clínico observado, al menos el nivel uno (cuando está asociado a neutropenia), no tendría significancia en la salud de los animales de la zona de estudio.

Por último, es posible que la neutropenia reportada para los elefantes marinos del Norte de este estudio se deba a un mal ajuste leucocitario o diferencias en las metodologías de muestreo y procesamiento de la sangre en relación con el estudio previo (Gulland et al., 2018).

1.2 Conteo leucocitario

El ambiente marino cambia y sus habitantes tienen estrategias para poder mantener ciertas constantes dentro de este ambiente cambiante, a esto se le llama homeostasis (Fanjul & Hiriart, 2008). Los leucocitos reflejan un poco de los procesos homeostáticos, ya que son un intervalo de rangos que se consideran normales para un organismo sano. Cuando hay eventos de cambios abruptos, como traumas, infecciones, estrés agudo, entonces es probable que los parámetros se salgan de la normalidad (Zhang et al., 2015). Sin embargo, al terminar o resolver estos eventos, se suele regresar a este intervalo saludable para la especie.

Los análisis leucocitarios muestran solamente un instante en el tiempo para un individuo. Si este está pasando por un proceso inflamatorio, tumoral o de estrés, los conteos leucocitarios estarán alterados. Si los análisis se hacen a varios individuos de una población, entonces es

posible ver si esos acontecimientos extraños son generales, lo que implicaría que pueden ser debido a un cambio en el ambiente o en las interacciones bióticas como agente infeccioso/parásito-hospedero. Esto seguirá representando solo un instante en el tiempo, como una fotografía, pero una fotografía poblacional. Tener valores de varios años en condiciones similares es sumamente interesante. Por ejemplo, al evaluar los parámetros leucocitarios de crías recién destetadas de *M. angustirostris* nacidas en el archipiélago de San Benito en 2016, 2017, 2019, 2022 y 2023 podemos ver si hay cambios significativos y proponer hipótesis de que fue lo que provocó estas diferencias en las poblaciones.

El conteo de leucocitos totales (WBC) es un parámetro ampliamente utilizado para medir la salud de los animales ya puede ser indicador de estrés, cambios en el leucograma, procesos tumorales, trauma, infección y otros procesos que desencadenan inflamación (McClain et al., 2022; Zhang et al., 2015). Se ha observado que los elefantes marinos del Norte con infecciones helmínticas suelen tener leucocitosis y esta suele estar asociada a neutrofilia, linfopenia y monocitopenia (Goldstein et al., 1998).

En este estudio se encontraron diferencias significativas dentro de los años de muestreo. En 2016, 2022 y 2023 los conteos leucocitarios fueron más bajos que los conteos normales reportados por Gulland et al. 2018, mientras que en 2017 y 2019 se mantuvieron dentro del rango clínico reportado para la especie.

Los conteos leucocitarios bajos podrían deberse a una neutropenia general de los animales analizados en este estudio, ya que los neutrófilos son el leucocito más abundante en el torrente sanguíneo (Longo, 2012; Male, 2021; Theml et al., 2004). Si fuera así, sería posible que se debiera a algún agente infeccioso, ya que estas desencadenan procesos que alteran tanto el conteo de leucocitos totales como los conteos diferenciales en mamíferos marinos (Weiss & Wardrop, 2010). Aunque algunos patógenos, como el virus del moquillo de las focas (morbillivirus), pueden causar leucopenia, la leucocitosis es más común durante las alteraciones infecciosas en pinnípedos (Goldstein et al., 1998; Gulland et al., 2018; Kelly et al., 2005; Martinez et al., 2022). La leucopenia está asociada a disfunciones o alteraciones en médula ósea, secuestro o destrucción periféricos de leucocitos o fenómenos autoinmunes (Marinella, 2014). Se han reportado fallas en la medula ósea que derivan en neutropenia por sustancias tóxicas y algunos medicamentos (Marinella, 2014). Se sabe que la mortandad de mamíferos marinos asociada a infecciones por morbillivirus y fitotóxicas de florecimientos algales pueden ser altas (Gulland et al., 2018). Sin embargo, es poco probable que las crías estén expuestas a estos agentes ya que entran al agua varias semanas después del destete (C. R. McMahon et al., 2000). Si fuera el caso, tendrían que haberse infectado durante el parto o durante la lactancia, lo que hasta el momento no se ha reportado para la especie.

En respuesta a enfermedades inflamatorias, los cambios morfológicos en los leucocitos de mamíferos marinos pueden incluir desplazamiento a la izquierda de los neutrófilos, toxicidad, reactividad monolítica, linfocitos atípicos o reactivos y células plasmáticas (Weiss & Wardrop, 2010). Al analizar los parámetros leucocitarios en función al año de muestreo, justamente las células mencionadas por Weiss y Wardrop son las que presentaron cambios significativos a lo largo del tiempo. Esto sugiere que hay diferentes factores que desencadenan procesos inflamatorios de manera distinta entre temporadas reproductivas.

1.3 Monocitos

Los monocitos cumplen una función como fagocitos profesionales dentro de las respuestas inmunes (Male, 2021). Su abundancia y producción varía durante procesos homeostáticos, infección bacterianas, parasíticas y virales e inflamación (Shi & Pamer, 2011). La cantidad de monocitos en sangre disminuye cuando son reclutados a tejidos debido a procesos inflamatorios, una vez en tejido se diferencian en macrófagos y pueden ser también pueden funcionar como presentadores de antígenos (Jakubzick et al., 2017). Por lo tanto, las variaciones en los parámetros de estas células pueden reflejar principalmente procesos infecciosos e inflamatorios (Yang et al., 2014).

En este estudio se encontraron diferencias significativas a lo largo de los años tanto en monocitos totales como normales y atípicos. El año 2016 fue el que mostró mayor conteo de monocitos totales y, además, el número más elevado de neutrófilos atípicos. Es lógico que los monocitos totales varíen de la misma forma que los normales ya que la mayoría de los monocitos encontrados no tenían anomalías. La variación más común eran monocitos reactivos o activados justamente son indicadoras de procesos inflamatorios o infecciosos (Peterson et al., 2024; Yang et al., 2014). Tomando en cuenta lo antes mencionado, es probable que en 2016 haya habido una mayor susceptibilidad a infecciones, alguna epidemia o procesos inflamatorios generales.

Durante el invierno de 2013 a 2014 hasta finales de 2015 se produjo una anomalía de calentamiento en la costa de Alaska llamada “La mancha”. Esta anomalía se fue extendiendo hasta llegar a Baja California a finales de 2015 (Cavole et al., 2016). La temperatura superficial del mar estaba entre 1 y 4 °C arriba de la temperatura superficial normal (Bond et al., 2015). Esto afectó el patrón de surgencias de agua fría y nutrientes, impactando directamente la zona fótica (Zaba & Rudnick, 2016). Además de alterar el flujo vertical del agua, se redujo el transporte horizontal de agua fría de la Corriente de California que va desde el norte hacia el sur (Cavole et al., 2016). La zona de transición del Pacífico Norte es el área donde las aguas frías del Ártico se juntan con aguas subtropicales más cálidas, esta es una zona altamente productiva y se observó que durante estas anomalías caliente se desplazó hacia el norte. Esto implica que la productividad y la dinámica ecosistémica también pudieron cambiar (Whitney, 2015).

Además, en 2015 y 2016 se registró un fenómeno El Niño (un sistema de baja presión en el Pacífico tropical, que afecta los patrones climáticos en todo el mundo). El Niño y La Mancha exacerbaron las anomalías de temperatura del agua en este periodo, generando cambios en el ecosistema desde varios ángulos (Cavole et al., 2016). La red trófica, desde la producción primaria por la alteración del flujo de nutrientes, a los niveles tróficos superiores, tuvo alteraciones (Bond et al., 2015). Cavole y colaboradores reportaron una reducción en copépodos y krill en el Pacífico Norte, el desplazamiento de calamares hacia aguas de mayor latitud, merma en salmón y peces de aguas profundas y alteraciones poblacionales de pinnípedos, como el lobo marino de California, y aves marinas, debido a la falta de alimento (Cavole et al., 2016).

La distribución de la Mancha corresponde a las zonas de alimentación y migración de los elefantes marinos de Norte, por lo que, durante ese tiempo y los años posteriores, mientras se restablecían las cadenas tróficas, pudieron haber tenido una alimentación deficiente o un gasto de energía mayor en la búsqueda de alimento. Esto pudo influir en la respuesta inmune de los animales de este estudio, haciéndolos más susceptibles a infecciones. Se reportó que las colonias de *M. angustirostris* de San Benito disminuyeron a una tasa anual promedio del 3.6% desde 2002 hasta 2019 (Rodríguez-Rafael et al., 2023). Sin embargo, los autores concluyen que los cambios en la temperatura superficial del mar no influyen en la tasa de natalidad de elefante marino del Norte. Esto no significa que las alteraciones tróficas no hayan tenido influencia sobre la función inmune y los parámetros leucocitarios, pero son necesarios más estudios para confirmar esta posibilidad.

1.4 Neutrófilos inmaduros

Los neutrófilos son la célula blanca más abundante en el torrente sanguíneo y por lo tanto es uno de los primeros indicadores cuando hay anomalías (Male, 2021). Estas células tienen un papel muy importante al combatir infecciones y activar procesos inflamatorios. Forman parte del sistema inmune innato y su principal función es fagocitar y reclutar a otras células inmunes al lugar del desafío (Theml et al., 2004). Su disminución incrementa la susceptibilidad a patógenos e, incluso, puede haber una baja drástica de neutrófilos cuando hay sepsis (Tak et al., 2017). La neutrofilia, por otro lado, indica inflamación y si es muy pronunciada, pueden reflejar procesos proinflamatorios severos (Seebach et al., 1997). Los neutrófilos maduran en la médula ósea y son liberados al sistema circulatorio. Sin embargo, durante procesos inflamatorios fuertes o inflamación aguda se liberan neutrófilos inmaduros también llamados neutrófilos en banda. Al aumento de neutrófilos en banda en la sangre se le conoce como un desplazamiento a la izquierda (Male, 2021). El desplazamiento hacia la izquierda suele asociarse a infecciones bacterianas severas (Seebach et al., 1997).

Hay varios procesos que afectan el conteo de neutrófilos en mamíferos marinos. Se encontró una elevación significativa en el recuento de glóbulos blancos, especialmente debido a una neutrofilia y un aumento en el porcentaje de células en banda inmaduras en individuos juveniles y adultos de *M. angustirostris* parasitados con el nemátodo *Otostrongylus circumlitus* en la costa central de California (Gulland et al., 1997). También se ha encontrado que en presencia de infecciones bacterianas graves se consume una gran cantidad de neutrófilos y por lo tanto también aumenta su producción. Si este proceso es muy demandante, también se liberarán estas células inmaduras (Honda et al., 2016). También hay fenómenos no infecciosos que desencadenan procesos inflamatorios en mamíferos marinos. Por ejemplo, algunos tipos de neoplasia, como cáncer urogenital del lobo marino de California, trauma en el tracto gastrointestinal o muscular y anomalías reproductivas como estrés fetal, nacimiento prematuro o abortos (Weiss & Wardrop, 2010).

Los resultados de los conteos de neutrófilos en banda del presente estudio, en general, se mantuvieron dentro de los parámetros clínicos reportados para la especie, aunque se observó que en 2016 y 2017 hay una leve elevación del conteo, fuera del rango normal. Esto habla de una dinámica en la interacción del ambiente y patógenos con procesos inflamatorios.

Aunque los conteos elevados por sí mismos no son suficientes para diagnosticar una infección o anomalía clínica (Honda et al., 2016), en este contexto, junto con los otros parámetros nos permite ver esta variación en la inmunidad de la colonia de elefantes marinos del Norte a lo largo de los años.

1.5 Linfocitos

Los linfocitos son células con la capacidad de reconocer antígenos, desencadenar la respuesta inmune adaptativa mediante la producción de anticuerpos y generar memoria inmunológica a largo plazo, además de regular ciertos procesos inflamatorios (Theml et al., 2004). La linfocitosis es la elevación del número de linfocitos circulando en sangre y se ha visto como indicador de algunas enfermedades como mononucleosis, especialmente si hay un aumento de linfocitos reactivos y leucemia, especialmente cuando se encuentran variantes atípicas como linfocitos gigantes granulados (LGL) u otras anomalías (Kipps, 2010).

En este estudio se encontró que los linfocitos normales y los linfocitos atípicos variaban entre años. En contraste, los linfocitos totales no mostraron esta variación interanual. Esto puede deberse a que los linfocitos reactivos, que en muchos casos son casi tan abundantes como los normales, no cambiaron. Son interesantes los cambios observados en los linfocitos atípicos, ya que una de las células anormales más encontradas fueron los linfocitos granulares grandes (LGL por sus siglas en inglés), especialmente en los cachorros muestreados en 2023. Como ya se mencionó, un aumento en estas células es característico de varios tipos de leucemia, sobre todo cuando ocurre junto con la presencia de blastos y otras anomalías (Kipps, 2010). Cabe señalar que las personas con leucemia son más propensas a liberar trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) hechas de ADN, histonas y proteínas granulares de estas células, que se liberan durante procesos infecciosos (Podaza et al., 2017). Aunque no se incluyó en los resultados de esta tesis, al analizar las muestras de sangre de las crías de esta tesis, se observaron NETs en 2023 en cantidades altas y, como se había mencionado en anteriormente, ese año se vio un número elevado de crías muertas en la playa comparado con otras temporadas. Hasta donde se sabe, esta tesis es el primer reporte de NETs y de linfocitos atípicos en la especie. Sin embargo, no se puede determinar que se trata de un proceso neoplásico hematológico; es importante tomar en cuenta que también se ha asociado la producción de NETs en pinnípedos en respuesta a los parásitos *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* (Villagra-Blanco et al., 2019). Es difícil conocer las causas que desencadenan alteraciones linfocitarias y producción de NETs. Sin embargo, vale la pena hacer más investigaciones al respecto.

1.6 Variación inter-sexo en los parámetros leucocitarios de las crías

La segunda hipótesis de esta tesis fue que los valores de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte son diferentes entre sexos. Esta hipótesis fue rechazada ya que en ninguno de los 16 parámetros inmunes se encontró evidencia de diferencias significativas entre sexos.

Hay varias especies que no muestran diferencias. Por ejemplo, un estudio donde analizaron los parámetros leucocitarios de pobladores humanos de Sierra Leona no encontraron diferencias significativas entre sexos dentro de los parámetros leucocitarios (Sahr et al., 1995). Sin embargo, se piensa que en especies sexualmente muy dimórficas como el elefante marino del Norte y varios pinnípedos sí podría existir esta diferencia. Yochem y colaboradores encontraron diferencias significativas en conteo de leucocitos totales y otros parámetros inmunes en *M. angustirostris* en individuos adultos, pero no en crías ni juveniles (Yochem et al., 2008). Es posible que el dimorfismo inmune esté vinculado con procesos reproductivos y por eso en crías no se han encontrado diferencias. Por otro lado, Stoffel y colaboradores (2019) reportaron diferencias inter-sexo en la microbiota entérica de cachorros de elefante marino del Norte del Archipiélago de San Benito, lo que sugeriría dimorfismo en la tolerancia inmune intestinal de los cachorros. Es posible, entonces, que a nivel local, como en el intestino, se tenga dimorfismo sexual a esta edad, mientras que a nivel sistémico, no se observe.

1.8 Medidas morfológicas de los animales

La tercera hipótesis de esta tesis era que los valores de leucocitos circulantes de crías de elefante marino del Norte cambian de acuerdo con las medidas morfológicas de los animales. Para desafiarla se analizó la longitud total y el diámetro umbilical. Los basófilos y neutrófilos inmaduros si fueron explicados por la longitud total de las crías, donde crías con mayor longitud tenían mayor cantidad de estas células. Por otro lado, el diámetro umbilical de las crías fue directamente proporcional al conteo de monocitos, pero fue inversamente proporcional al conteo de eosinófilos y al índice clínico de los cachorros.

a) Longitud total

La longitud total es un indicador de crecimiento de los animales. Al nacer, la madre amamanta a las crías durante 28 días. En este periodo se observa un crecimiento marcado, principalmente a lo ancho del cuerpo, debido al gran aporte energético de la leche (C. R. McMahon et al., 2000). Las crías nacen pesando entre 40 y 50 kilos y al final de la lactancia pesan alrededor de 100 kilos más (Würsig et al., 2018). Después del destete, el crecimiento longitudinal continúa, pero como ya no hay aporte energético y comienza un ayuno prolongado, el diámetro del animal se reduce. La longitud de los animales podría indicarnos de manera indirecta la diferencia de edad entre las crías. Las más largas seguramente tendrán algunos días o semanas más, en promedio, que las crías más cortas.

Basófilos

Los basófilos son la célula menos abundante dentro de los leucocitos circulantes, y corresponde a menos del 1% (Longo, 2012). Estas células están implicadas en la regulación de la inmunidad adaptativa, protección contra agentes infecciosos y trastornos como alergias y autoinmunidad (Karasuyama et al., 2011). Los conteos de basófilos y la longitud de las crías fueron inversamente proporcional, donde entre mayor longitud, menos basófilos. Esto podría reflejar cambios en la ontogenia del sistema inmune de las crías.

Como ya se mencionó antes en algunos pinnípedos, como en el lobo marino de Steller, se ha observado que el número de leucocitos totales baja conforme la edad del cachorro aumenta a la par que el sistema inmunológico se desarrolla por completo (Keogh et al., 2010). Es posible que la disminución en el conteo de basófilos con los cambios en la longitud corporal de los cachorros indique maduración del sistema inmune de los cachorros. También Hall y colaboradores observaron que en elefante marino del Sur y en la foca gris, varios leucocitos aumentaron en los primeros 15 días de nacimiento y posteriormente comienzan a disminuir (Hall et al., 2003).

Neutrófilos inmaduros

Los neutrófilos en banda también se relacionaron significativamente con la longitud de los animales, con una tendencia inversamente proporcional. Como ya se expuso anteriormente, la presencia de números incrementados de neutrófilos en banda se ha reportado principalmente durante infecciones bacterianas graves, sepsis y otros trastornos inflamatorios (Seebach et al., 1997). Sin embargo, no es tan probable que los elefantes más jóvenes (se infiere que los de menor longitud son más jóvenes) tengan más neutrófilos en banda por infecciones severas.

En este estudio todas las crías estudiadas ya estaban destetadas. Por lo tanto, entre menor fuera su longitud corporal podrían tener más reservas energéticas disponibles y menos días de ayuno al momento del muestreo que los cachorros más largos, lo que representaría menos estrés fisiológico, que podría resultar en una mejor condición inmune. La reducción en neutrófilos inmaduras conforme a la longitud podría deberse también a los procesos de maduración leucocitaria mencionados en el apartado anterior.

b) Diámetro umbilical

El diámetro umbilical de las crías se registra durante los muestreos rutinarios y es una manera indirecta de medir la cantidad de reservas de los elefantes marinos del Norte. Entre mayor sea el diámetro, es posible que tengan más reservas de grasa para sobrevivir al ayuno. Dentro de esta variable se encontraron cuatro parámetros significativos agrupados en tres categorías: monocitos, eosinófilos e índice clínico.

Monocitos

Tanto los monocitos normales como los monocitos totales variaron en función del diámetro umbilical de los cachorros. Estos dos tipos celulares están correlacionados, ya que la mayoría de los monocitos encontrados fueron normales. Se encontró que, a mayor diámetro umbilical, más número de monocitos circulantes. Sin embargo, ningún animal presentó monocitosis y solo 24 de 135 presentaron monocitopenia.

En 2006 Bastos y colaboradores encontraron una cría de elefante marino del Sur en mal estado nutricional y con una mordida de tiburón. El animal fue rehabilitado en el Centro de Rescate de Mamíferos Acuáticos, en Brasil. Durante el proceso de rehabilitación, se obtuvieron tres

muestras de sangre y se evaluaron los parámetros leucocitarios. En el primer muestreo, los leucocitos estaban dentro de los parámetros normales y solo se presentaba linfopenia. En el segundo análisis, se restablecieron los linfocitos, pero el número de monocitos disminuyó junto con el de eosinófilos, en el tercer y último examen, la monocitopenia continuó pero la eosinopenia se volvió eosinofilia. Los autores proponen que la monocitopenia junto con las variantes de eosinófilos pueden deberse a estados de estrés (Bastos et al., 2006).

Los organismos incluidos en esta tesis podrían estar sufriendo estrés fisiológico debido al estado de ayuno post-destete. Sin embargo, las crías fueron muestreadas suelen estar recién destetadas así que es plausible que el estrés por ayuno aun no fuera tan fuerte como si se hubieran obtenido las muestras al final del destete. Se ha propuesto que otra fuente de estrés puede ser el manejo de los animales por parte de los investigadores. Sin embargo, St. Aubin y colaboradores no encontraron alteraciones hematológicas asociadas al manejo prolongado (30 minutos) de crías de foca arpa (Aubin et al., 1979). Adicionalmente, McMahon y colaboradores no encontraron efectos medibles a corto y largo plazo en la supervivencia de crías de elefante marino del Sur repetidamente manipuladas en las primeras seis semanas de vida (McMahon et al., 2005).

Los monocitos son células fagocíticas profesionales que al migrar a los tejidos se diferencian a macrófagos, que son células presentadoras de antígenos. Quiere decir que interactúan tanto con la respuesta innata (fagocitosis) como la adaptativa (presentación de antígenos) (Male, 2021). Ambas respuestas son bastante costosas energéticamente (Nelson & Demas, 2012). Se piensa que se hacen canjes con otros procesos fisiológicos para administrar la energía del organismo (Ganeshan et al., 2019). Ganeshan y colaboradores encontraron que la activación del sistema inmune es costosa y debe administrarse con otros procesos como metabolismo y control de la temperatura corporal. Incluso en momentos de baja ingesta energética y alta demanda en mantenimiento de la temperatura, se opta por mecanismos inmunes tolerantes (que son mucho menos costosos) que los resistentes.

Ninguno de los animales incluidos en este estudio presentó monocitosis, incluso aquellos con más monocitos en sangre estaban dentro de los parámetros normales para la especie. En ese sentido, la elevación en la cantidad de monocitos no fue clínicamente significativa. Por otro lado, una menor cantidad de monocitos en sangre puede implicar una demanda mayor de macrófagos en uno o más tejidos debido a procesos inflamatorios. Se encontró que las crías con menor diámetro umbilical tenían menos monocitos en sangre, lo que podría implicar que aquellos cachorros que cuentan con menos reservas energéticas no pueden responder adecuadamente a desafíos inflamatorios. Sin embargo, se ha reportado que, a mayor estrés, mayor era el número de monocitos en sangre (van de Wouw et al., 2021). Es posible que los cachorros de elefante marino del Norte que tengan más reservas tienen más formas de lidiar con patógenos y no se reclutan tantos monocitos a tejido por lo que hay más circulando en sangre.

Eosinófilos

(Male, 2021; Theml et al., 2004) Se encontró que el diámetro umbilical de las crías era inversamente proporcional al conteo de eosinófilos en sangre; es decir, entre mayor era el diámetro de las crías, menor era el conteo de eosinófilos. Estas células son poco abundantes

en la sangre de manera normal y su presencia incrementada suele reflejar una regulación de la respuesta inmune o infecciones por helmintos o por ectoparásitos (Male, 2021; Theml et al., 2004). Se han encontrado ectoparásitos en cachorros de elefante marino del Norte recién destetados (K. Acevedo-Whitehouse, datos no publicados); sin embargo, no se tenía información sobre su infección en las crías incluidas en este estudio. Los parásitos helmintos también podrían estar presentes, aunque solamente estarían aquellos que se transmiten durante la lactancia, ya que las crías aún no cazan su propio alimento. Es posible que los animales recién destetados (que tendrían mayor diámetro umbilical) aún no hubieran tenido tiempo de ser colonizados por ectoparásitos, por lo que los eosinófilos no se encontraron en mayor abundancia en sangre. Lo mismo podría ocurrir si se tratara de alérgenos presentes en la colonia.

Índice clínico

El índice clínico era explicado por el diámetro umbilical de los elefantes marinos cachorros, donde entre mayor era el diámetro menor, menor era el índice clínico (es decir, más sanos eran los animales) (Ya se discutió por que se piensa que todas las crías tienen al menos una anomalía en la sección 1.1 de la discusión.

La relación de estas variables puede deberse a la cantidad de reservas asociadas al diámetro umbilical. Con más reservas energéticas las crías contarían con más energía para tener un sistema inmunológico activo, modulado y así evitar enfermedades en caso de infección por agentes patógenos. Adicionalmente, también es posible que, con más energía disponible en reservas, puedan llevar a cabo mejor sus procesos fisiológicos cotidianos, como metabolismo, regulación de temperatura, desarrollo, etc. sin presentar anomalías en sangre.

1.9 Condición corporal de las crías

La cuarta hipótesis a desafiar en esta tesis fue que la condición corporal de las crías de elefante marino del Norte se relaciona con los leucocitos circulantes. Se encontró que la condición corporal predecía el conteo de leucocitos totales, neutrófilos, monocitos, linfocitos y pero el resto de las variables no se relacionó significativamente con la condición de los cachorros.

Leucocitos totales

Los leucocitos totales variaron dependiendo del grosor de la capa de grasa de las crías, de forma que entre mayor era la capa de grasa, menor era la cantidad de leucocitos circulantes. Solamente uno de los 135 cachorros incluidos en el estudio presentó leucocitosis, mientras que 73 animales presentaron leucopenia, conforme a los valores de referencia reportados para la especie.

La disminución de los leucocitos circulantes conforme al aumento en la condición podría reflejar una distribución de las células hacia diferentes tejidos durante la maduración de las crías. Algunos estudios sugieren que la capa de grasa en *M. angustirostris* presenta una

estratificación vertical, donde la grasa más interna tienen mayor diversidad celular y mayor tasa metabólica mientras que la capa más externa tiene mayor capacidad de repuesta a patógenos y estresores celulares (Khudyakov et al., 2022). La capa de grasa de los elefantes marinos está distribuida uniformemente en los animales, y alberga varios leucocitos, especialmente en la capa más externa. Se ha propuesto que la expresión de células T de ayuda en el tejido adiposo ayuda a prevenir la inflamación en estos animales, que son naturalmente obesos (Khudyakov et al., 2022). Otros autores mencionan que los leucocitos en tejido adiposo también contribuyen con el control de patógenos que se infiltran al tejido adiposo, respuesta de adipocitos a nutrientes y remodelación de la matriz extracelular (Man et al., 2017). Con más leucocitos en el tejido adiposo es posible que los circulantes disminuyan. Con la información disponible a partir de la presente tesis, no es posible explorar estas posibilidades.

Neutrófilos totales

Los neutrófilos totales variaron respecto a la condición corporal de las crías, de forma que entre más gruesa era la capa de grasa, menor era la cantidad de neutrófilos circulando en sangre. Este resultado concuerda con el observado para los leucocitos totales, lo que es congruente debido a que los neutrófilos son el leucocito sanguíneo más abundante (Theml et al., 2004). Es posible que los factores que expliquen la disminución en los neutrófilos y leucocitos totales en relación a cambios en la condición de los cachorros sean los mismos.

También se discutió ya (ver sección 1.1 de la discusión) cuál es la posible causa de la neutropenia generalizada que se observó ya que 106 de 134 animales tienen un conteo más bajo de lo esperado para individuos saludables según los intervalos normales reportados para la especie (Gulland et al., 2018).

Monocitos totales

Los monocitos totales mostraron la misma tendencia que las células ya discutidas. Se observó una tendencia a disminuir mientras conforme la capa de grasa era mayor. Aunque los monocitos tienen una morfología general que se puede identificar fácilmente en un frotis sanguíneo, existen algunas diferencias en los monocitos circulantes que los permiten cumplir funciones diferentes y diferenciarse de múltiples maneras en tejidos (Geissmann et al., 2003). Se ha propuesto que los monocitos se diferencian en dos subgrupos principales: los que son reclutados hacia tejidos inflamatorios y los que llegan a zonas sin inflamación.

Se sabe también que los monocitos en el tejido adiposo cumplen un papel fundamental en la remodelación de este (Gallerand et al., 2021). Específicamente, el tejido adiposo café requiere un constante reemplazo de monocitos y cuando estos son reclutados, la cantidad de monocitos en sangre disminuye sin tener alteraciones en la médula ósea (Gallerand et al., 2021). El tejido adiposo café es muy importante para los mamíferos marinos neonatos ya que es el que les permite generar calor y termoregular (Cannon & Nedergaard, 2004). Es posible que las crías con mayor cantidad de grasa requieran de mayor reclutamiento de monocitos para su tejido adiposo y de esta manera se ve una disminución en los conteos

leucocitarios sin una aparente afección clínica en las crías. Sería necesario realizar biopsias de tejido graso para investigar esta posibilidad, pero ese objetivo no estaba contemplado en la presente tesis.

Basófilos

Los basófilos también mostraron diferencias significativas respecto a la condición corporal, aunque con una tendencia contraria a la de los monocitos, neutrófilos y leucocitos totales. Específicamente, se observó que entre mayor era la capa de grasa, también era mayor el número de basófilos.

Los basófilos son el tipo celular más escaso en sangre y está asociado principalmente a regulación de procesos inflamatorios, trastornos inmunes como alergias o autoinmunidad (Karasuyama et al., 2011; Longo, 2012) y también se ha visto su participación en el control de infección por helmintos (Ohnmacht & Voehringer, 2009). Su tendencia contraria a los otros tipos celulares relevantes en la condición corporal podría ser simplemente el reflejo de la baja de los otros leucocitos y no necesariamente un aumento de esta célula.

Si se trata de un verdadero aumento podrías ser debido a la influencia de parásitos. Existen ciertos parásitos que tienen afinidad por el tejido adiposo, por ejemplo, *Trypanozoma* infecta adipocitos en ratones y otros mamíferos (Bradford & Contreras, 2024; Trindade et al., 2016). *Neospora canium* un parásito encontrado en pinnípedos (Villagra-Blanco et al., 2019) también tiene afinidad por el tejido adiposo (Teixeira et al., 2015). Teixeira y colaboradores además encontraron un aumento en monocitos y linfocitos en ratones infectados. Sin embargo, en este estudio se vio una baja de monocitos y leucocitos totales mientras la capa de grasa era mayor, contrario a lo esperado, si se asume que los animales con más grasa son más propensos a tener parásitos. La Leishmaniasis es una enfermedad parasitaria donde el huésped también presenta afinidad por el tejido adiposo (Bagirova et al., 2011) y se han encontrado *Leishmania sp.* en pinnípedos como la foca monje del mediterráneo (*Monachus monachus*), pero, a la fecha, no se ha reportado en el elefante marino del Norte. En ese sentido, es posible que los basófilos circulantes en los cachorros aumenten en respuesta a infecciones por helmintos que son afines a los adipocitos y por lo tanto es más probable que infecten a los organismos con mayor capa de grasa. Estudios futuros podrían abordar esta posibilidad.

Linfocitos atípicos

Los linfocitos atípicos se relacionaron con la condición corporal de las crías de elefante marino del Norte, de forma a mayor capa de grasa más los linfocitos atípicos. Los morfotipos atípicos observados de los linfocitos incluyeron linfocitos binucleados, linfocitos mitóticos, apoptóticos, vacuolados, gigantes granulados (LGL), y granulados; siendo las más comunes los linfocitos vacuolados y los linfocitos LGL. Estos, como se mencionó en la sección 1.5 de la discusión, suelen estar asociados a trastornos leucémicos (Kipps, 2010). Los linfocitos vacuolados pueden ser indicadores de varias enfermedades metabólicas como enfermedades de almacenamiento metabólico (Anderson, 2005). En las capas de grasa más grandes podría

ser más probable que se generaran trastornos metabólicos que dieran como resultados linfocitos atípicos en sangre. Sin embargo, solo seis de los 134 individuos en este estudio tienen linfocitosis, así que es probable que el incremento de estas células no se clínicamente relevante.

CONCLUSIONES

El objetivo general de esta tesis fue evaluar el impacto del sexo, morfometría, condición corporal y año de nacimiento sobre los leucocitos circulantes de las crías de elefante marino del Norte nacidas en el archipiélago de San Benito entre los años 2016 a 2023. Se cumplió el objetivo ya que se pudo analizar el efecto de cuatro variables independientes (año, sexo, condición corporal y medidas morfométricas) sobre la variación de 16 parámetros inmunitarios (leucocitos totales, relación neutrófilo linfocito, neutrófilos totales, linfocitos totales, monocitos totales, eosinófilos, basófilos, neutrófilos inmaduros, neutrófilos maduros, neutrófilos atípicos, linfocitos normales, linfocitos reactivos, linfocitos atípicos, monocitos normales y monocitos atípicos).

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que el sexo de las crías de elefante marino del Norte no parece determinar diferencias en los parámetros leucocitarios, al menos a la edad de los cachorros estudiados, ya que no hubo diferencias significativas con ninguna variable dependiente. La condición corporal impactó el comportamiento de cinco de dieciséis parámetros significativos. En cuanto a la variación anual se detectaron diferencias significativas en cinco parámetros leucocitarios.

Esta tesis nos permite ver que las células inmunes circulantes de los cachorros de elefante marino del Norte cambian en respuesta a varios factores, pero el efecto no es homogéneo entre los diversos tipos celulares. Por otro lado, este estudio reportó la presencia de leucocitos atípicos, que no habían sido reportados previamente para la especie.

Para futuras investigaciones se recomienda incrementar el número de muestras para contar con mayor poder estadístico, ya que algunos resultados mostraban una tendencia no significativa. También se deberán estudiar más variables para intentar dilucidar los impulsores del cambio a través del tiempo en estos parámetros. Este estudio puede también ser realizado en otras poblaciones de elefantes marinos del Norte con el fin de saber si se trata de relaciones a nivel especie o es un fenómeno local en las focas del área de estudio.

REFERENCIAS

- Admyre, C., Johansson, S. M., Qazi, K. R., Filén, J.-J., Lahesmaa, R., Norman, M., Neve, E. P. A., Scheynius, A., & Gabrielsson, S. (2007). Exosomes with Immune Modulatory Features Are Present in Human Breast Milk. *The Journal of Immunology*, 179(3), 1969–1978. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1969>
- Alberts, B., Johnson, A., & Lewis, J. (2002). Helper T Cells and Lymphocyte Activation. In *Molecular Biology of the Cell* (4th edition).
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th edition). Garland Science.
- Alkhalidy, H., Awan, Z. A., Abouzaid, A. A., Elbahaie, H. M., Al Amoudi, S. M., Andarawi, M., & Shehata, S. F. (2020). <p>The Prevalence of Isolated Neutropenia at High Altitude in Southern Saudi Arabia: Does Altitude Affect Leucocyte Count?</p>. *International Journal of General Medicine, Volume 13*, 1373–1379. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S284133>
- Anderson, D. M. (2009). Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs). *Ocean & Coastal Management*, 52(7), 342–347. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2009.04.006>
- Anderson, G. (2005). Blood film examination for vacuolated lymphocytes in the diagnosis of metabolic disorders; retrospective experience of more than 2500 cases from a single centre. *Journal of Clinical Pathology*, 58(12), 1305–1310. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.027045>
- Atallah-Yunes, S. A., Ready, A., & Newburger, P. E. (2019). Benign ethnic neutropenia. *Blood Reviews*, 37, 100586. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.06.003>
- Aubin, D., Ausin, T., & Geraci, J. (1979). EFFECTS OF HANDLING STRESS ON PLASMA ENZYMES IN HARP SEALS, *Phoca groenlandica*. *Journal of Wildlife Diseases*, 15(4), 569–572. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-15.4.569>
- Aurioles-Gamboa, D., Elorriaga-Verplancken, F., & Hernández-Camacho, C. J. (2010). The current population status of Guadalupe fur seal (*Arctocephalus townsendi*) on the San Benito Islands, Mexico. *Marine Mammal Science*, 26(2), 402–408. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2009.00350.x>
- Awan, Z. A., Al Amoudi, S. M., Saboor, M., & Alkhalidy, H. Y. (2021). Isolated Neutropenia/Benign Ethnic Neutropenia: A Common Clinical and Laboratory Finding in Southern and Western Saudi Arabia. *International Journal of General Medicine, Volume 14*, 451–457. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S300690>
- Bagirova, M., Findikli, N., Koc, R. C., Baydar, S. Y., Oztel, O. N., Allahverdiyev, A. M., & Elcicek, S. (2011). Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells as a New Host Cell in Latent Leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(3), 535–539. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0037>

- Bain, B. J. (2005). Diagnosis from the Blood Smear. *New England Journal of Medicine*, 353(5), 498–507. <https://doi.org/10.1056/NEJMra043442>
- Barrett, T. (1995). Morbilliviruses in aquatic mammals: report on round table discussion. *Veterinary Microbiology*, 44(2–4), 261–265. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(95\)00019-7](https://doi.org/10.1016/0378-1135(95)00019-7)
- Bastos, B. L., Gerson de Oliveira Norberto, B. L., Maia-Nogueira, R., & Guimarães, J. E. (2006). Avaliação hematológica e dosagem bioquímica de ALT, AST e creatinina em elefante-marinho-do-sul, *Mirounga leonina* (linnaeus, 1758), encontrado no litoral de Salvador, Bahia. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 43(1), 18. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26513>
- Basu, N., Scheuhammer, A. M., Sonne, C., Letcher, R. J., Born, E. W., & Dietz, R. (2009). Is dietary mercury of neurotoxicological concern to wild polar bears (*Ursus maritimus*)? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(1), 133–140. <https://doi.org/10.1897/08-251.1>
- Beaugrand, G., & Reid, P. C. (2003). Long-term changes in phytoplankton, zooplankton and salmon related to climate. *Global Change Biology*, 9(6), 801–817. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00632.x>
- Berta, A., Sumich, J. L., & Kovacs, K. M. (2015). *Marine Mammals: Evolutionary Biology* (Third edition). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-07338-6>
- Blanco, L. P., Wang, X., Carlucci, P. M., Torres-Ruiz, J. J., Romo-Tena, J., Sun, H., Hafner, M., & Kaplan, M. J. (2021). RNA Externalized by Neutrophil Extracellular Traps Promotes Inflammatory Pathways in Endothelial Cells. *Arthritis & Rheumatology*, 73(12), 2282–2292. <https://doi.org/10.1002/art.41796>
- Blanke, B., Speich, S., Madec, G., & Maugé, R. (2002). A global diagnostic of interior ocean ventilation. *Geophysical Research Letters*, 29(8). <https://doi.org/10.1029/2001GL013727>
- Bond, N. A., Cronin, M. F., Freeland, H., & Mantua, N. (2015). Causes and impacts of the 2014 warm anomaly in the NE Pacific. *Geophysical Research Letters*, 42(9), 3414–3420. <https://doi.org/10.1002/2015GL063306>
- Bonilla, F. A., & Oettgen, H. C. (2010). Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S33–S40. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>
- Borregaard, N. (2010). Neutrophils, from Marrow to Microbes. *Immunity*, 33(5), 657–670. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.11.011>
- Bossart, G. D. (2011). Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Veterinary Pathology*, 48(3), 676–690. <https://doi.org/10.1177/0300985810388525>
- Boyd, I. L. (1991). Environmental and physiological factors controlling the reproductive cycles of pinnipeds. *Canadian Journal of Zoology*, 69(5), 1135–1148. <https://doi.org/10.1139/z91-162>

- Bradford, B. J., & Contreras, G. A. (2024). Adipose Tissue Inflammation: Linking Physiological Stressors to Disease Susceptibility. *Annual Review of Animal Biosciences*, 12(1), 261–281. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021122-113212>
- Braune, B., Chételat, J., Amyot, M., Brown, T., Clayden, M., Evans, M., Fisk, A., Gaden, A., Girard, C., Hare, A., Kirk, J., Lehnerr, I., Letcher, R., Loseto, L., Macdonald, R., Mann, E., McMeans, B., Muir, D., O’Driscoll, N., ... Stern, G. (2015). Mercury in the marine environment of the Canadian Arctic: Review of recent findings. *Science of The Total Environment*, 509–510, 67–90. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.133>
- Butterworth, A. (2016). A Review of the Welfare Impact on Pinnipeds of Plastic Marine Debris. *Frontiers in Marine Science*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00149>
- Calvin, K., Dasgupta, D., Krinner, G., Mukherji, A., Thorne, P. W., Trisos, C., Romero, J., Aldunce, P., Barrett, K., Blanco, G., Cheung, W. W. L., Connors, S., Denton, F., Diongue-Niang, A., Dodman, D., Garschagen, M., Geden, O., Hayward, B., Jones, C., ... Ha, M. (2023). *IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland.* <https://doi.org/10.59327/IPCC/AR6-9789291691647>
- Cancro, M. P., & Tomayko, M. M. (2021). Memory B cells and plasma cells: The differentiative continuum of humoral immunity. *Immunological Reviews*, 303(1), 72–82. <https://doi.org/10.1111/imr.13016>
- Cannon, B., & Nedergaard, J. (2004). Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiological Reviews*, 84(1), 277–359. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>
- Carr, L. E., Virmani, M. D., Rosa, F., Munblit, D., Matazel, K. S., Elolimy, A. A., & Yeruva, L. (2021). Role of Human Milk Bioactives on Infants’ Gut and Immune Health. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.604080>
- Cavole, L., Demko, A., Diner, R., Giddings, A., Koester, I., Pagniello, C., Paulsen, M.-L., Ramirez-Valdez, A., Schwenck, S., Yen, N., Zill, M., & Franks, P. (2016). Biological Impacts of the 2013–2015 Warm-Water Anomaly in the Northeast Pacific: Winners, Losers, and the Future. *Oceanography*, 29(2). <https://doi.org/10.5670/oceanog.2016.32>
- Chabot-Richards, D. S., & George, T. I. (2014). Leukocytosis. *International Journal of Laboratory Hematology*, 36(3), 279–288. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12212>
- Chang, R., & Goldsby, K. A. (2011). *Fundamentos de química*. McGraw-Hill.
- Colegrove, K. M., Lowenstine, L. J., & Gulland, F. M. D. (2005). Leptospirosis in Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*) Stranded along the California Coast. *Journal of Wildlife Diseases*, 41(2), 426–430. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-41.2.426>
- Cooper, C. F., & Stewart, B. S. (1983). Demography of Northern Elephant Seals, 1911-1982. *Science*, 219(4587), 969–971. <https://doi.org/10.1126/science.219.4587.969>

- Corrons, J.-L. V., Albarède, S., Flandrin, G., Heller, S., Horvath, K., Houwen, B., Nordin, G., Sarkani, E., Skitek, M., Blerk, M. Van, & Libeer, J.-C. (2004). Guidelines for blood smear preparation and staining procedure for setting up an external quality assessment scheme for blood smear interpretation. Part I: control material. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 42(8). <https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.149>
- Creatore, C., Parker, M. A., Emmott, S., & Chin, A. W. (2013). Efficient Biologically Inspired Photocell Enhanced by Delocalized Quantum States. *Physical Review Letters*, 111(25), 253601. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.111.253601>
- Dahl, R., Walsh, J. C., Lancki, D., Laslo, P., Iyer, S. R., Singh, H., & Simon, M. C. (2003). Regulation of macrophage and neutrophil cell fates by the PU.1:C/EBP α ratio and granulocyte colony-stimulating factor. *Nature Immunology*, 4(10), 1029–1036. <https://doi.org/10.1038/ni973>
- Dale, D. C., & Hammond, W. P. (1988). Cyclic neutropenia: A clinical review. *Blood Reviews*, 2(3), 178–185. [https://doi.org/10.1016/0268-960X\(88\)90023-9](https://doi.org/10.1016/0268-960X(88)90023-9)
- de Boer, A. M., Sigman, D. M., Toggweiler, J. R., & Russell, J. L. (2007). Effect of global ocean temperature change on deep ocean ventilation. *Paleoceanography*, 22(2). <https://doi.org/10.1029/2005PA001242>
- Debier, C., Chalon, C., Le Bœuf, B. J., de Tillesse, T., Larondelle, Y., & Thomé, J.-P. (2006). Mobilization of PCBs from blubber to blood in northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) during the post-weaning fast. *Aquatic Toxicology*, 80(2), 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.08.002>
- Delaney, M. A., Colegrove, K. M., Spraker, T. R., Zuerner, R. L., Galloway, R. L., & Gulland, F. M. D. (2014). Isolation of *Leptospira* from a Phocid: Acute Renal Failure and Mortality from Leptospirosis in Rehabilitated Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*), California, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 50(3), 621–627. <https://doi.org/10.7589/2013-08-195>
- DeLong, R. L. (2022). Diet of the northern elephant seal. In *Elephant seals: population ecology, behavior, and physiology*.
- Derraik, J. G. B. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 44(9), 842–852. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00220-5)
- Desforges, J.-P. W., Sonne, C., Levin, M., Siebert, U., De Guise, S., & Dietz, R. (2016). Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals. *Environment International*, 86, 126–139. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.007>
- Diessler, M. E., Migliorisi, A. L., Gomez Castro, M. G., Favaron, P. O., Zanuzzi, C. N., Negrete, J., Miglino, M. A., & Barbeito, C. G. (2020). Term placenta of the southern elephant seal (*Mirounga leonina*). *Placenta*, 100, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.07.031>

- Doney, S. C., Ruckelshaus, M., Emmett Duffy, J., Barry, J. P., Chan, F., English, C. A., Galindo, H. M., Grebmeier, J. M., Hollowed, A. B., Knowlton, N., Polovina, J., Rabalais, N. N., Sydeman, W. J., & Talley, L. D. (2012). Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, 4(1), 11–37. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-041911-111611>
- Duranti, S., Lugli, G. A., Mancabelli, L., Armanini, F., Turrone, F., James, K., Ferretti, P., Gorfer, V., Ferrario, C., Milani, C., Mangifesta, M., Anzalone, R., Zolfo, M., Viappiani, A., Pasolli, E., Bariletti, I., Canto, R., Clementi, R., Cologna, M., ... Ventura, M. (2017). Maternal inheritance of bifidobacterial communities and bifidophages in infants through vertical transmission. *Microbiome*, 5(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0282-6>
- Dybas, L. D. (2005). Dead Zones Spreading in World Oceans. *BioScience*, 55(7), 552–557.
- Dzierzak, E., & Philipsen, S. (2013). Erythropoiesis: Development and Differentiation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(4), a011601–a011601. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011601>
- Edgcomb, V. P., & Pachiadaki, M. (2014). Ciliates along Oxyclines of Permanently Stratified Marine Water Columns. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 61(4), 434–445. <https://doi.org/10.1111/jeu.12122>
- Elorriaga-Verplancken, F. R., Ferretto, G., & Angell, O. C. (2015a). Current status of the California sea lion (*Zalophus californianus*) and the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) at the San Benito Archipelago, Mexico. *Ciencias Marinas*, 41(4), 269–281. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2545>
- Elorriaga-Verplancken, F. R., Ferretto, G., & Angell, O. C. (2015b). Current status of the California sea lion (*Zalophus californianus*) and the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) at the San Benito Archipelago, Mexico. *Ciencias Marinas*, 41(4), 269–281. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i4.2545>
- Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borroero, J. C., Galgani, F., Ryan, P. G., & Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 9(12), e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Fanjul, M. L., & Hiriart, M. (2008). *Biología funcional de los animales*. (Segunda edición). Siglo xxi.
- Forbes, W., Johnson, R., & Consolazio F. (1941). Leukopenia in Negro workmen. . *American Journal of the Medical Sciences*, 12, 201–407.
- Frater, J. L. (2020). How I investigate neutropenia. *International Journal of Laboratory Hematology*, 42(S1), 121–132. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13210>
- Freitas, R. F., Macedo, M. de S., Lessa, A. do C., Pinto, N. A. V. D., & Teixeira, R. A. (2021). RELATIONSHIP BETWEEN THE DIET QUALITY INDEX IN NURSING MOTHERS AND THE

- FATTY ACID PROFILE OF MATURE BREAST MILK. *Revista Paulista de Pediatria*, 39.
<https://doi.org/10.1590/1984-0462/2021/39/2019089>
- Gallerand, A., Stunault, M. I., Merlin, J., Luehmann, H. P., Sultan, D. H., Firulyova, M. M., Magnone, V., Khedher, N., Jalil, A., Dolfi, B., Castiglione, A., Dumont, A., Ayrault, M., Vaillant, N., Gilleron, J., Barbry, P., Dombrowicz, D., Mack, M., Masson, D., ... Ivanov, S. (2021). Brown adipose tissue monocytes support tissue expansion. *Nature Communications*, 12(1), 5255. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25616-1>
- Ganeshan, K., Nikkanen, J., Man, K., Leong, Y. A., Sogawa, Y., Maschek, J. A., Van Ry, T., Chagwedera, D. N., Cox, J. E., & Chawla, A. (2019). Energetic Trade-Offs and Hypometabolic States Promote Disease Tolerance. *Cell*, 177(2), 399-413.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.050>
- Gantt, R., Le Boeuf, B., & Whiting, R. (1973). Perinatal Behavior of Northern Elephant Seal Females and Their Young. *Behaviour*, 43(3), 121-156. <https://doi.org/10.1163/156853973X00508>
- García-Aguilar, M., & Morales-Bojórquez, E. (2005). Estimating the haul-out population size of a colony of northern elephant seals *Mirounga angustirostris* in Mexico, based on mark-recapture data. *Marine Ecology Progress Series*, 297, 297-302. <https://doi.org/10.3354/meps297297>
- Geissmann, F., Jung, S., & Littman, D. R. (2003). Blood Monocytes Consist of Two Principal Subsets with Distinct Migratory Properties. *Immunity*, 19(1), 71-82. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00174-2](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00174-2)
- Goldstein, T., Johnson, S. P., Werner, L. J., Nolan, S., & Hilliard, B. A. (1998). Causes of erroneous white blood cell counts and differentials in clinically healthy young northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine : Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, 29(4), 408-412.
- Goldstein, T., Lowenstine, L. J., Lipscomb, T. P., Mazet, J. A. K., Novak, J., Stott, J. L., & Gulland, F. M. D. (2006). Infection with a Novel Gammaherpesvirus in Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*). *Journal of Wildlife Diseases*, 42(4), 830-835. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.4.830>
- Gulati, G., Song, J., Florea, A. D., & Gong, J. (2013). Purpose and Criteria for Blood Smear Scan, Blood Smear Examination, and Blood Smear Review. *Annals of Laboratory Medicine*, 33(1), 1-7. <https://doi.org/10.3343/alm.2013.33.1.1>
- Gulland, F. M. D., Beckmen, K., Burek, K., Lowenstine, L., Werner, L., Spraker, T., Dailey, M., & Harris, E. (1997). NEMATODE (*OTOSTRONGYLUS CIRCUMLITUS*) INFESTATION OF NORTHERN ELEPHANT SEALS (*MIROUNGA ANGUSTIROSTRIS*) STRANDED ALONG THE CENTRAL CALIFORNIA COAST. *Marine Mammal Science*, 13(3), 446-458. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1997.tb00651.x>

- Gulland, F. M. D., Dierauf, L. A., & Whitman, K. L. (2018). *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine, Third Edition* (2nd edition). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9781315144931>
- Haddy, T. B., Rana, S. R., & Castro, O. (1999). Benign ethnic neutropenia: What is a normal absolute neutrophil count? *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, *133*(1), 15–22.
<https://doi.org/10.1053/lc.1999.v133.a94931>
- Hall, A. J., Engelhard, G. H., Brasseur, S. M. J. M., Vecchione, A., Burton, H. R., & Reijnders, P. J. H. (2003). The immunocompetence handicap hypothesis in two sexually dimorphic pinniped species—is there a sex difference in immunity during early development? *Developmental & Comparative Immunology*, *27*(6–7), 629–637.
[https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(03\)00029-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(03)00029-6)
- Hanson, L. A. (1998). Breastfeeding Provides Passive and Likely Long-Lasting Active Immunity. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, *81*(6), 523–537. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)62704-4](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62704-4)
- Hardy, R. R., & Hayakawa, K. (2001). B Cell Development Pathways. *Annual Review of Immunology*, *19*(1), 595–621. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.595>
- Hassrick, J. L., Crocker, D. E., Teutschel, N. M., McDonald, B. I., Robinson, P. W., Simmons, S. E., & Costa, D. P. (2010). Condition and mass impact oxygen stores and dive duration in adult female northern elephant seals. *Journal of Experimental Biology*, *213*(4), 585–592.
<https://doi.org/10.1242/jeb.037168>
- Heikkila, M. P., & Saris, P. E. J. (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology*, *95*(3), 471–478.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02002.x>
- Henrick, B. M., Rodriguez, L., Lakshmikanth, T., Pou, C., Henckel, E., Arzoomand, A., Olin, A., Wang, J., Mikes, J., Tan, Z., Chen, Y., Ehrlich, A. M., Bernhardsson, A. K., Mugabo, C. H., Ambrosiani, Y., Gustafsson, A., Chew, S., Brown, H. K., Pramps, J., ... Brodin, P. (2021). Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life. *Cell*, *184*(15), 3884–3898.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.030>
- Henson, S. A., Beaulieu, C., Ilyina, T., John, J. G., Long, M., Séférian, R., Tjiputra, J., & Sarmiento, J. L. (2017). Rapid emergence of climate change in environmental drivers of marine ecosystems. *Nature Communications*, *8*(1), 14682.
<https://doi.org/10.1038/ncomms14682>
- Hickman, C. P. (2007). *Integrated Principles of Zoology* (14th Edition). McGraw Hill.
- Hidalgo, A., Libby, P., Soehnlein, O., Aramburu, I. V., Papayannopoulos, V., & Silvestre-Roig, C. (2022). Neutrophil extracellular traps: from physiology to pathology. *Cardiovascular Research*, *118*(13), 2737–2753. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab329>

- Hinde, K., & German, J. B. (2012). Food in an evolutionary context: insights from mother's milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(11), 2219–2223. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5720>
- Honda, T., Uehara, T., Matsumoto, G., Arai, S., & Sugano, M. (2016a). Neutrophil left shift and white blood cell count as markers of bacterial infection. *Clinica Chimica Acta*, 457, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.03.017>
- Honda, T., Uehara, T., Matsumoto, G., Arai, S., & Sugano, M. (2016b). Neutrophil left shift and white blood cell count as markers of bacterial infection. *Clinica Chimica Acta*, 457, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.03.017>
- Horgan, M., Martinez, M. E., Archer, L. L., Duignan, P. J., & Wellehan, J. F. X. (2023). DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A NOVEL DUPLEX PROBE–HYBRIDIZATION QUANTITATIVE PCR FOR LYMPHOMA-ASSOCIATED MIROUNGINE GAMMAHERPESVIRUS 3 IN NORTHERN ELEPHANT SEALS (MIROUNGA ANGUSTIROSTRIS). *Journal of Wildlife Diseases*, 59(1). <https://doi.org/10.7589/JWD-D-22-00030>
- Hosseini, M., Valizadeh, E., Hosseini, N., Khatibshahidi, S., & Raeisi, S. (2020). The Role of Infant Sex on Human Milk Composition. *Breastfeeding Medicine*, 15(5), 341–346. <https://doi.org/10.1089/bfm.2019.0205>
- Houwen, B. (2002). Blood film preparation and staining procedures. *Clinics in Laboratory Medicine*, 22(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/S0272-2712\(03\)00064-7](https://doi.org/10.1016/S0272-2712(03)00064-7)
- Hückstädt, L. A., Holser, R. R., Tift, M. S., & Costa, D. P. (2018). The extra burden of motherhood: reduced dive duration associated with pregnancy status in a deep-diving mammal, the northern elephant seal. *Biology Letters*, 14(2). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2017.0722>
- Jackson, J. B. C. (2010). The future of the oceans past. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1558), 3765–3778. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0278>
- Jagannathan-Bogdan, M., & Zon, L. I. (2013). Hematopoiesis. *Development*, 140(12), 2463–2467. <https://doi.org/10.1242/dev.083147>
- Jakubzick, C. V., Randolph, G. J., & Henson, P. M. (2017). Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nature Reviews Immunology*, 17(6), 349–362. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.28>
- Jayne, S. R., & Marotzke, J. (2001). The dynamics of ocean heat transport variability. *Reviews of Geophysics*, 39(3), 385–411. <https://doi.org/10.1029/2000RG000084>
- Jeffree, E. P., & Jeffree, C. E. (1994). Temperature and the Biogeographical Distributions of Species. *Functional Ecology*, 8(5), 640. <https://doi.org/10.2307/2389927>
- Johnson, K. S., & Bif, M. B. (2021). Constraint on net primary productivity of the global ocean by Argo oxygen measurements. *Nature Geoscience*, 14(10), 769–774. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00807-z>

- Junak, S. A., & Philbrick, R. (1999). *FLOWERING PLANTS OF THE SAN BENITO ISLANDS, BAJA CALIFORNIA, MEXICO*.
- Karasuyama, H., Mukai, K., Obata, K., Tsujimura, Y., & Wada, T. (2011). Nonredundant Roles of Basophils in Immunity. *Annual Review of Immunology*, 29(1), 45–69. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101257>
- Katsogiannou, E. G., Athanasiou, L. V., Katsoulos, P. D., Polizopoulou, Z. S., Tzivara, A., & Christodouloupoulos, G. (2020). Estimation of white blood cell and platelet counts in ovine blood smears, and a comparison with the ADVIA 120 hematology analyzer. *Veterinary Clinical Pathology*, 49(2), 222–226. <https://doi.org/10.1111/vcp.12871>
- Keith, S. A., Maynard, J. A., Edwards, A. J., Guest, J. R., Bauman, A. G., van Hoodonk, R., Heron, S. F., Berumen, M. L., Bouwmeester, J., Piromvaragorn, S., Rahbek, C., & Baird, A. H. (2016). Coral mass spawning predicted by rapid seasonal rise in ocean temperature. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1830), 20160011. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0011>
- Kelly, T. R., Greig, D., Colegrove, K. M., Lowenstine, L. J., Dailey, M., Gulland, F. M., & Haulena, M. (2005). Metastrongyloid Nematode (*Otostrongylus circumlitus*) Infection in a Stranded California Sea Lion (*Zalophus californianus*)— a New Host-parasite Association. *Journal of Wildlife Diseases*, 41(3), 593–598. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-41.3.593>
- Kendall, B., Reinhard, C. T., Lyons, T. W., Kaufman, A. J., Poulton, S. W., & Anbar, A. D. (2010). Pervasive oxygenation along late Archaean ocean margins. *Nature Geoscience*, 3(9), 647–652. <https://doi.org/10.1038/ngeo942>
- Kennedy, S. (1998). Morbillivirus infections in aquatic mammals. *Journal of Comparative Pathology*, 119(3), 201–225. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(98\)80045-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(98)80045-5)
- Keogh, M. J., Maniscalco, J. M., & Atkinson, S. (2010). Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) pups undergo a decrease in circulating white blood cells and the ability of T cells to proliferate during early postnatal development. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 137(3–4), 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.05.008>
- Khudyakov, J. I., Allen, K. N., Crocker, D. E., Trost, N. S., Roberts, A. H., Pirard, L., Debier, C., Piotrowski, E. R., & Vázquez-Medina, J. P. (2022). Comprehensive molecular and morphological resolution of blubber stratification in a deep-diving, fasting-adapted seal. *Frontiers in Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1057721>
- Kipps, T. J. (2010). Lymphocytosis and lymphocytopenia. . In *Williams Hematology*. The McGraw-Hill Companies.
- Kondo, M. (2010). Lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *Immunological Reviews*, 238(1), 37–46. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00963.x>

- Kondo, M., Wagers, A. J., Manz, M. G., Prohaska, S. S., Scherer, D. C., Beilhack, G. F., Shizuru, J. A., & Weissman, I. L. (2003). Biology of Hematopoietic Stem Cells and Progenitors: Implications for Clinical Application. *Annual Review of Immunology*, *21*(1), 759–806. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141007>
- König, H., & Liebich, H. (2005). *Anatomía de los animales domésticos: órganos, sistema circulatorio y sistema nervioso*. Editorial Médica Panamericana.
- Korhonen, H., Marnila, P., & Gill, H. S. (2000). Milk immunoglobulins and complement factors. *British Journal of Nutrition*, *84*(S1), 75–80. <https://doi.org/10.1017/S0007114500002282>
- Kovacs, K. M., Aguilar, A., Auriolos, D., Burkanov, V., Campagna, C., Gales, N., Gelatt, T., Goldsworthy, S. D., Goodman, S. J., Hofmeyr, G. J. G., Härkönen, T., Lowry, L., Lydersen, C., Schipper, J., Sipilä, T., Southwell, C., Stuart, S., Thompson, D., & Trillmich, F. (2012). Global threats to pinnipeds. *Marine Mammal Science*, *28*(2), 414–436. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2011.00479.x>
- Krol, K. M., & Grossmann, T. (2018). Psychological effects of breastfeeding on children and mothers. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, *61*(8), 977–985. <https://doi.org/10.1007/s00103-018-2769-0>
- Larson, B. L., Heary, H. L., & Devery, J. E. (1980). Immunoglobulin Production and Transport by the Mammary Gland. *Journal of Dairy Science*, *63*(4), 665–671. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82988-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82988-2)
- Le Boeuf, B., Condit, R., & Reiter, J. (2019a). Lifetime reproductive success of northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). *Canadian Journal of Zoology*, *97*(12), 1203–1217. <https://doi.org/10.1139/cjz-2019-0104>
- Le Boeuf, B., Condit, R., & Reiter, J. (2019b). Lifetime reproductive success of northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). *Canadian Journal of Zoology*, *97*(12), 1203–1217. <https://doi.org/10.1139/cjz-2019-0104>
- Le Boeuf, B., & Crocker, D. E. (2005). Ocean climate and seal condition. *BMC Biology*, *3*(1), 9. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-3-9>
- Le Boeuf, B., & Laws, R. M. (1994). *Elephant Seals: Population Ecology, Behavior, and Physiology*. UNIVERSITY OF CALIFORNIA PRESS.
- Le Doare, K., Holder, B., Bassett, A., & Pannaraj, P. S. (2018). Mother's Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity. *Frontiers in Immunology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00361>
- Leboeuf, B. J. (1972). Sexual Behavior in the Northern Elephant Seal *Mirounga Angustirostris*. *Behaviour*, *41*(1–2), 1–26. <https://doi.org/10.1163/156853972X00167>
- Longo, D. L. (2012). *Atlas of Hematology and Analysis of Peripheral Blood Smears*. McGraw-Hil.

- Lyons, K. E., Ryan, C. A., Dempsey, E. M., Ross, R. P., & Stanton, C. (2020). Breast Milk, a Source of Beneficial Microbes and Associated Benefits for Infant Health. *Nutrients*, 12(4), 1039. <https://doi.org/10.3390/nu12041039>
- Male, D. (2021). *Immunology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003137658>
- Malone, T. C., & Newton, A. (2020). The Globalization of Cultural Eutrophication in the Coastal Ocean: Causes and Consequences. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00670>
- Man, K., Kutuyavin, V. I., & Chawla, A. (2017). Tissue Immunometabolism: Development, Physiology, and Pathobiology. *Cell Metabolism*, 25(1), 11–26. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.016>
- Marinella, M. (2014). *Leukocytosis and Leukopenia*. Infectious Disease and Antimicrobial Therapy: Leukocytosis and Leukopenia.
- Marshall, N. E., Abrams, B., Barbour, L. A., Catalano, P., Christian, P., Friedman, J. E., Hay, W. W., Hernandez, T. L., Krebs, N. F., Oken, E., Purnell, J. Q., Roberts, J. M., Soltani, H., Wallace, J., & Thornburg, K. L. (2022). The importance of nutrition in pregnancy and lactation: lifelong consequences. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 226(5), 607–632. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.12.035>
- Martinez, M., Stacy, N., Wellehan, J., Archer, L., Frasca, S., Rios, C., Trumbull, E., Rivard, M., Whitmer, E., Field, C., & Duignan, P. (2022). Diffuse large B cell lymphoma and a novel gammaherpesvirus in northern elephant seals *Mirounga angustirostris*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 149, 59–70. <https://doi.org/10.3354/dao03662>
- McClain, A. M., Whitmer, E. R., Rios, C., Jensen, E. D., Stacy, N. I., & Johnson, S. P. (2022). Evaluation of the HemoCue® WBC System as a Point of Care Diagnostic Tool for White Blood Cell Quantification in Pinnipeds. *Oceans*, 3(1), 72–83. <https://doi.org/10.3390/oceans3010007>
- McMahon, Burton, H. R., & Bester, M. N. (2000a). Weaning mass and the future survival of juvenile southern elephant seals, *Mirounga leonina*, at Macquarie Island. *Antarctic Science*, 12(2), 149–153. <https://doi.org/10.1017/S0954102000000195>
- McMahon, C. R., Burton, H. R., & Bester, M. N. (2000b). Weaning mass and the future survival of juvenile southern elephant seals, *Mirounga leonina*, at Macquarie Island. *Antarctic Science*, 12(2), 149–153. <https://doi.org/10.1017/S0954102000000195>
- McMahon, Hoff, J. van den, & Burton, H. (2005). Handling Intensity and the Short- and Long-term Survival of Elephant Seals: Addressing and Quantifying Research Effects on Wild Animals. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 34(6), 426–429. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-34.6.426>
- Meciano, G. de P., Schalch Junior, F. J., Polizel, G. H. G., Fernandes, A. C., Cracco, R. C., Saran Netto, A., Gomes, R. da C., Cônsolo, N. R. B., & Santana, M. H. de A. (2022). Maternal

- Nutrition Affects Nitrogen Isotopic Signature in Blood Plasma of Beef Cattle Dams and Their Offspring. *Metabolites*, 12(12), 1249. <https://doi.org/10.3390/metabo12121249>
- Meyer, A., Sloyan, B. M., Polzin, K. L., Phillips, H. E., & Bindoff, N. L. (2015). Mixing Variability in the Southern Ocean. *Journal of Physical Oceanography*, 45(4), 966–987. <https://doi.org/10.1175/JPO-D-14-0110.1>
- Molina, V., Belmar, L., & Ulloa, O. (2010). High diversity of ammonia-oxidizing archaea in permanent and seasonal oxygen-deficient waters of the eastern South Pacific. *Environmental Microbiology*, 12(9), 2450–2465. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02218.x>
- Montaldo, E., Zotto, G. Del, Chiesa, M. Della, Mingari, M. C., Moretta, A., Maria, A. De, & Moretta, L. (2013). Human NK cell receptors/markers: A tool to analyze NK cell development, subsets and function. *Cytometry Part A*, 83A(8), 702–713. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22302>
- Moore, C. J. (2008). Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research*, 108(2), 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.07.025>
- Nagasawa, M., Spits, H., & Ros, X. R. (2018). Innate Lymphoid Cells (ILCs): Cytokine Hubs Regulating Immunity and Tissue Homeostasis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(12), a030304. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030304>
- Nelson, R., & Demas, G. (2012). *Ecoimmunology*. Oxford University Press.
- Ohnmacht, C., & Voehringer, D. (2009). Basophil effector function and homeostasis during helminth infection. *Blood*, 113(12), 2816–2825. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-154773>
- Olive, P. J. W. (1995). Annual breeding cycles in marine invertebrates and environmental temperature: Probing the proximate and ultimate causes of reproductive synchrony. *Journal of Thermal Biology*, 20(1–2), 79–90. [https://doi.org/10.1016/0306-4565\(94\)00030-M](https://doi.org/10.1016/0306-4565(94)00030-M)
- Oliver, P. M., Smith, K. L., Laver, R. J., Doughty, P., & Adams, M. (2014). Contrasting patterns of persistence and diversification in vicars of a widespread Australian lizard lineage (the *Oedura marmorata* complex). *Journal of Biogeography*, 41(11), 2068–2079. <https://doi.org/10.1111/jbi.12364>
- Oosthuizen, W. C., Péron, G., Pradel, R., Bester, M. N., & de Bruyn, P. J. N. (2021). Positive early-late life-history trait correlations in elephant seals. *Ecology*, 102(4). <https://doi.org/10.1002/ecy.3288>
- Orkin, S. H. (1995). Hematopoiesis: how does it happen? *Current Opinion in Cell Biology*, 7(6), 870–877. [https://doi.org/10.1016/0955-0674\(95\)80072-7](https://doi.org/10.1016/0955-0674(95)80072-7)

- Paik, E. J., & Zon, L. I. (2010). Hematopoietic development in the zebrafish. *The International Journal of Developmental Biology*, 54(6–7), 1127–1137. <https://doi.org/10.1387/ijdb.093042ep>
- Pajewska-Szmyt, M., Sinkiewicz-Darol, E., & Gadzała-Kopciuch, R. (2019). The impact of environmental pollution on the quality of mother's milk. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(8), 7405–7427. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04141-1>
- Palis, J., & Yoder, M. C. (2001). Yolk-sac hematopoiesis. *Experimental Hematology*, 29(8), 927–936. [https://doi.org/10.1016/S0301-472X\(01\)00669-5](https://doi.org/10.1016/S0301-472X(01)00669-5)
- Palmeira, P., & Carneiro-Sampaio, M. (2016). Immunology of breast milk. *Revista Da Associação Médica Brasileira*, 62(6), 584–593. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.62.06.584>
- Papayannopoulos, V. (2018). Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nature Reviews Immunology*, 18(2), 134–147. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>
- Perez-Venegas, D. J., Toro-Valdivieso, C., Ayala, F., Brito, B., Iturra, L., Arriagada, M., Seguel, M., Barrios, C., Sepúlveda, M., Oliva, D., Cárdenas-Alayza, S., Urbina, M. A., Jorquera, A., Castro-Nallar, E., & Galbán-Malagón, C. (2020). Monitoring the occurrence of microplastic ingestion in Otariids along the Peruvian and Chilean coasts. *Marine Pollution Bulletin*, 153, 110966. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110966>
- Petamidis, T. A., Mylonakis, M. E., & Koutinas, A. F. (2017). Evaluating the leukogram in the dog and cat. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 55(2), 130. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15171>
- Peterson, S. H., Peterson, M. G., Ackerman, J. T., Debier, C., Goetsch, C., Holser, R. R., Hückstädt, L. A., Johnson, J. C., Keates, T. R., McDonald, B. I., McHuron, E. A., & Costa, D. P. (2024). Foraging behavior and age affect maternal transfer of mercury to northern elephant seal pups. *Scientific Reports*, 14(1), 4693. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54527-6>
- Platt, T., Rao, D. V. S., & Irwin, B. (1983). Photosynthesis of picoplankton in the oligotrophic ocean. *Nature*, 301(5902), 702–704. <https://doi.org/10.1038/301702a0>
- Plaza-Díaz, J., Fontana, L., & Gil, A. (2018). Human Milk Oligosaccharides and Immune System Development. *Nutrients*, 10(8), 1038. <https://doi.org/10.3390/nu10081038>
- Podaza, E., Sabbione, F., Risnik, D., Borge, M., Almejún, M. B., Colado, A., Fernández-Grecco, H., Cabrejo, M., Bezares, R. F., Trevani, A., Gamberale, R., & Giordano, M. (2017). Neutrophils from chronic lymphocytic leukemia patients exhibit an increased capacity to release extracellular traps (NETs). *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 66(1), 77–89. <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1921-7>
- Powe, C. E., Knott, C. D., & Conklin-Brittain, N. (2010). Infant sex predicts breast milk energy content. *American Journal of Human Biology*, 22(1), 50–54. <https://doi.org/10.1002/ajhb.20941>

- Poznanski, S. M., & Ashkar, A. A. (2019). What Defines NK Cell Functional Fate: Phenotype or Metabolism? *Frontiers in Immunology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01414>
- Pradeu, T. (2019). *Philosophy of Immunology*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781108616706>
- Puhm, F., Laroche, A., & Boilard, E. (2023). Diversity of Megakaryocytes. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *43*(11), 2088–2098. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.123.318782>
- Raju, T. N. K. (2011). Breastfeeding is a dynamic biological process--not simply a meal at the breast. *Breastfeeding Medicine : The Official Journal of the Academy of Breastfeeding Medicine*, *6*(5), 257–259. <https://doi.org/10.1089/bfm.2011.0081>
- Randall, T. D., Carragher, D. M., & Rangel-Moreno, J. (2008). Development of Secondary Lymphoid Organs. *Annual Review of Immunology*, *26*(1), 627–650. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090257>
- Reinfelder, J. R. (2011). Carbon Concentrating Mechanisms in Eukaryotic Marine Phytoplankton. *Annual Review of Marine Science*, *3*(1), 291–315. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142720>
- Reiter, J., Stinson, N. L., & Le Boeuf, B. J. (1978). Northern elephant seal development: The transition from weaning to nutritional independence. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *3*(4), 337–367. <https://doi.org/10.1007/BF00303199>
- Rodríguez-Rafael, E. D., García-Aguilar, M. de la C., Galván-Magaña, F., & Elorriaga-Verplancken, F. R. (2023a). Decline of one of the southernmost northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) colonies and its relationship with a warm sea environment. *Ciencias Marinas*. <https://doi.org/10.7773/cm.y2023.3361>
- Rodríguez-Rafael, E. D., García-Aguilar, M. de la C., Galván-Magaña, F., & Elorriaga-Verplancken, F. R. (2023b). Decline of one of the southernmost northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) colonies and its relationship with a warm sea environment. *Ciencias Marinas*. <https://doi.org/10.7773/cm.y2023.3361>
- Ross, P. S., Vos, J. G., Birnbaum, L. S., & Osterhaus, A. D. M. E. (2000). PCBs Are a Health Risk for Humans and Wildlife. *Science*, *289*(5486), 1878–1879. <https://doi.org/10.1126/science.289.5486.1878d>
- Roth, D. B., & Craig, N. L. (1998). VDJ Recombination. *Cell*, *94*(4), 411–414. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81580-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81580-9)
- Sahr, F., Hazra, P. K., & Grillo, T. A. (1995). White blood cell count in healthy Sierra Leoneans. *West African Journal of Medicine*, *14*(2), 105–107.
- Sanvito, S., Galimberti, F., & Miller, E. H. (2007). Having a big nose: structure, ontogeny, and function of the elephant seal proboscis. *Canadian Journal of Zoology*, *85*(2), 207–220. <https://doi.org/10.1139/z06-193>

- Saragoça Bruno, R., Restrepo, J. A., & Valverde, R. A. (2020). Effects of El Niño Southern Oscillation and local ocean temperature on the reproductive output of green turtles (*Chelonia mydas*) nesting at Tortuguero, Costa Rica. *Marine Biology*, 167(9), 128. <https://doi.org/10.1007/s00227-020-03749-z>
- Saxena, S., & Wong, E. T. (1990). Heterogeneity of common hematologic parameters among racial, ethnic, and gender subgroups. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 114(7), 715–719.
- Schleyer, G., & Vardi, A. (2020). Algal blooms. *Current Biology*.
- Seebach, J. D., Morant, R., Rüegg, R., Seifert, B., & Fehr, J. (1997). The Diagnostic Value of the Neutrophil Left Shift in Predicting Inflammatory and Infectious Disease. *American Journal of Clinical Pathology*, 107(5), 582–591. <https://doi.org/10.1093/ajcp/107.5.582>
- Sellner, K. G., Doucette, G. J., & Kirkpatrick, G. J. (2003). Harmful algal blooms: causes, impacts and detection. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(7), 383–406. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0074-9>
- Senko, J., Nelms, S., Reavis, J., Witherington, B., Godley, B., & Wallace, B. (2020). Understanding individual and population-level effects of plastic pollution on marine megafauna. *Endangered Species Research*, 43, 234–252. <https://doi.org/10.3354/esr01064>
- Shaheen, N. A., Rehan, H., Moghairi, A., Gmati, G., Damlaj, M., Salama, H., Rather, M., Mendoza, M. A., Alanazi, A., Al Ahmari, B., Al Zahrani, M., Al-Hejazi, A., & Alaskar, A. S. (2022). Hematological indices in the adult saudi population: Reference intervals by gender, age, and region. *Frontiers in Medicine*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.901937>
- Shi, C., & Pamer, E. G. (2011). Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 762–774. <https://doi.org/10.1038/nri3070>
- Siemińska, I., Poljańska, E., & Baran, J. (2021). Granulocytes and Cells of Granulocyte Origin—The Relevant Players in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3801. <https://doi.org/10.3390/ijms22073801>
- Stewart, B. S. (1997). Ontogeny of Differential Migration and Sexual Segregation in Northern Elephant Seals. *Journal of Mammalogy*, 78(4), 1101–1116. <https://doi.org/10.2307/1383053>
- Sujitha, S. B., Jonathan, M. P., Villegas, L. E. C., & Hernández-Camacho, C. J. (2020). Occurrences and ecotoxicological risks of trace metals in the San Benito Archipelago, Eastern Pacific Ocean, Mexico. *Ocean & Coastal Management*, 184, 105003. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2019.105003>
- Sun, Su, Y., Jiao, A., Wang, X., & Zhang, B. (2023). T cells in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 235. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01471-y>

- Sun, X., Li, Z., Ding, X., Ji, G., Wang, L., Gao, X., Chang, Q., & Zhu, L. (2022). Effects of Algal Blooms on Phytoplankton Composition and Hypoxia in Coastal Waters of the Northern Yellow Sea, China. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.897418>
- Swain, S. L. (1995). T-Cell Subsets: Who does the polarizing? *Current Biology*, 5(8), 849–851. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(95\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(95)00170-9)
- Sydeman, W. J., & Allen, S. G. (1999). PINNIPED POPULATION DYNAMICS IN CENTRAL CALIFORNIA: CORRELATIONS WITH SEA SURFACE TEMPERATURE AND UPWELLING INDICES. *Marine Mammal Science*, 15(2), 446–461. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1999.tb00812.x>
- Tak, T., Wijten, P., Heeres, M., Pickkers, P., Scholten, A., Heck, A. J. R., Vrisekoop, N., Leenen, L. P., Borghans, J. A. M., Tesselaar, K., & Koenderman, L. (2017). Human CD62Ldim neutrophils identified as a separate subset by proteome profiling and in vivo pulse-chase labeling. *Blood*, 129(26), 3476–3485. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-727669>
- Takahama, Y. (2006). Journey through the thymus: stromal guides for T-cell development and selection. *Nature Reviews Immunology*, 6(2), 127–135. <https://doi.org/10.1038/nri1781>
- Tan, S. W., Meiller, J. C., & Mahaffey, K. R. (2009). The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. *Critical Reviews in Toxicology*, 39(3), 228–269. <https://doi.org/10.1080/10408440802233259>
- Teixeira, L., Moreira, J., Melo, J., Bezerra, F., Marques, R. M., Ferreira, P., Correia, A., Monteiro, M. P., Ferreira, P. G., & Vilanova, M. (2015). Immune response in the adipose tissue of lean mice infected with the protozoan parasite *Neospora caninum*. *Immunology*, 145(2), 242–257. <https://doi.org/10.1111/imm.12440>
- Tett, P. (1990). The photic zone. In *Light and Life in the Sea* (pp. 59–87).
- Thau, L., Asuka, E., & Mahajan, K. (2023). Physiology, Opsonization. *StatPearls Publishing [Internet]*.
- Thau, L., Asuka, E., & Mahajan, K. (2024). *Physiology, Opsonization*.
- Theml, H., Diem, H., & Haferlach, T. (2004a). *Color Atlas of Hematology* (2nd Edition). Thieme.
- Theml, H., Diem, H., & Haferlach, T. (2004b). *Color Atlas of Hematology; Practical Microscopic and clinical Diagnosis* (2nd edition). Thieme.
- Trindade, S., Rijo-Ferreira, F., Carvalho, T., Pinto-Neves, D., Guegan, F., Aresta-Branco, F., Bento, F., Young, S. A., Pinto, A., Van Den Abbeele, J., Ribeiro, R. M., Dias, S., Smith, T. K., & Figueiredo, L. M. (2016). Trypanosoma brucei Parasites Occupy and Functionally Adapt to the Adipose Tissue in Mice. *Cell Host & Microbe*, 19(6), 837–848. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.05.002>
- van de Wouw, M., Sichetti, M., Long-Smith, C. M., Ritz, N. L., Moloney, G. M., Cusack, A.-M., Berding, K., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2021). Acute stress increases monocyte levels

- and modulates receptor expression in healthy females. *Brain, Behavior, and Immunity*, 94, 463–468. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.03.005>
- Verduci, E., Gianni, M. L., Vizzari, G., Vizzuso, S., Cerasani, J., Mosca, F., & Zuccotti, G. V. (2021). The Triad Mother-Breast Milk-Infant as Predictor of Future Health: A Narrative Review. *Nutrients*, 13(2), 486. <https://doi.org/10.3390/nu13020486>
- Villagra-Blanco, R., Silva, L., Conejeros, I., Taubert, A., & Hermosilla, C. (2019). Pinniped- and Cetacean-Derived ETosis Contributes to Combating Emerging Apicomplexan Parasites (Toxoplasma gondii, Neospora caninum) Circulating in Marine Environments. *Biology*, 8(1), 12. <https://doi.org/10.3390/biology8010012>
- Wang, Y., Liu, J., Burrows, P. D., & Wang, J.-Y. (2020). *B Cell Development and Maturation* (pp. 1–22). https://doi.org/10.1007/978-981-15-3532-1_1
- Water Science School. (2019). *U.S. Geological Survey*. How Much Water Is There on Earth? .
- Wei, C.-L., Rowe, G. T., Escobar-Briones, E., Boetius, A., Soltwedel, T., Caley, M. J., Soliman, Y., Huettmann, F., Qu, F., Yu, Z., Pitcher, C. R., Haedrich, R. L., Wicksten, M. K., Rex, M. A., Baguley, J. G., Sharma, J., Danovaro, R., MacDonald, I. R., Nunnally, C. C., ... Narayanaswamy, B. E. (2010). Global Patterns and Predictions of Seafloor Biomass Using Random Forests. *PLoS ONE*, 5(12), e15323. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015323>
- Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology* (Sixth Edition). Blackwell Publishing Ltd.
- Whitney, F. A. (2015). Anomalous winter winds decrease 2014 transition zone productivity in the NE Pacific. *Geophysical Research Letters*, 42(2), 428–431. <https://doi.org/10.1002/2014GL062634>
- Wolpert, L., Tickle, C., & Martinez Arias, A. (2019). *Principles of Development* (6th edition). Oxford University Press.
- Würsig, B., Thewissen, J. G. M., & Kovacs, K. M. (2018). *Encyclopedia of Marine Mammals* (3rd edition). Academic Press .
- Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.-F., & Wang, H. (2014). Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
- Yatim, K. M., & Lakkis, F. G. (2015). A Brief Journey through the Immune System. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(7), 1274–1281. <https://doi.org/10.2215/CJN.10031014>
- Yi, D., & Kim, S. (2021). Human Breast Milk Composition and Function in Human Health: From Nutritional Components to Microbiome and MicroRNAs. *Nutrients*, 13(9), 3094. <https://doi.org/10.3390/nu13093094>

- Yochem, P. K., Stewart, B. S., Mazet, J. A. K., & Boyce, W. M. (2008). HEMATOLOGIC AND SERUM BIOCHEMICAL PROFILE OF THE NORTHERN ELEPHANT SEAL (*MIROUNGA ANGUSTIROSTRIS*): VARIATION WITH AGE, SEX, AND SEASON. *Journal of Wildlife Diseases*, *44*(4), 911–921. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.4.911>
- Zaba, K. D., & Rudnick, D. L. (2016). The 2014–2015 warming anomaly in the Southern California Current System observed by underwater gliders. *Geophysical Research Letters*, *43*(3), 1241–1248. <https://doi.org/10.1002/2015GL067550>
- Zhang, Y., Bai, J., Wu, H., & Ying, J. Y. (2015). Trapping cells in paper for white blood cell count. *Biosensors and Bioelectronics*, *69*, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.02.019>
- Zhu, X., & Zhu, J. (2020). CD4 T Helper Cell Subsets and Related Human Immunological Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(21), 8011. <https://doi.org/10.3390/ijms21218011>