



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD IZTAPALAPA  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

**“Histopatología de *Scomberomorus cavalla* Cuvier  
1829 (Perciformes: Scombridae) como biomarcador de la  
contaminación acuática”.**

**T E S I S**

**Que para obtener el grado de  
MAESTRA EN BIOLOGÍA**

**P R E S E N T A:**

**Biol. Alejandra Reyes Márquez**

**Comité Tutorial:**

**Directora**

**Dra. Xochitl Guzmán García**

**Asesores:**

**Dr. Gerardo Figueroa Lucero**

**Dra. Marcela Arteaga Silva**

La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana  
Unidad Iztapalapa, pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de  
Calidad del CONACyT y cuenta con el apoyo del mismo convenio:

PFP-20-93.

Con el número de beca: 738801

Esta Tesis forma parte del proyecto: “**Indicadores de Integridad Ecológica y Salud Ambiental**”, aprobado por el departamento de Hidrobiología, Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos (MIRA) en el laboratorio de Ecotoxicología de la UAM-I.

Agradezco de manera especial el apoyo del personal del laboratorio de Ecotoxicología, así como la asesoría en el montaje y análisis de técnicas tisulares a la **Biol. e H. T. Irma Hernández Calderas**.

Agradecemos el apoyo del **Dr. Juan Carlos Segoviano Ramírez** encargado de la Unidad de Bioimagen del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), por la asesoría técnica y académica en la edición y análisis de fotomicrografías.

Asimismo, agradecemos el apoyo y asesoría del **cDr. Felipe de Jesús Muñoz González** por su contribución y elaboración del programa de análisis histopatológico titulado: IINDEX-PH: índice de impacto de contaminación y salud, utilizado en este proyecto.

## **Comité Tutorial**

**Dra. Xochitl Guzmán García.** Laboratorio de Ecotoxicología. Departamento de Hidrobiología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

Directora.

**Dr. Gerardo Figueroa Lucero.** Planta Experimental de Producción Acuícola. Departamento de Hidrobiología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

Asesor.

**Dra. Marcela Arteaga Silva.** Departamento de Biología de la Reproducción. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa.

Asesora.

El jurado designado por la  
**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
de la Unidad Iztapalapa, aprobó la tesis que presentó:

**Alejandra Reyes Márquez**

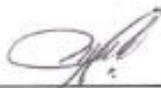
El día 13 de diciembre del año 2018.

Miembros del Jurado:



---

**Dr. Gerardo Figueroa Lucero**  
Presidente.



---

**Dra. Marcela Arteaga Silva**  
Secretaria.



---

**Dra. Marcela Galar Martínez**  
Sinodal.



---

**Dr. Juan Carlos Segoviano Ramírez**  
Sinodal.

## **Dedicatoria**

*A mi madre, Teresa, por que siempre has sido mi ejemplo a seguir y ese ejemplo me inspira y motiva para alcanzar nuevas metas.*

## **Agradecimientos**

Al **CONACyT** por el apoyo económico para la elaboración de este proyecto. A la **Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa** y a la comisión de la **Maestría en Biología** por aceptarme como alumna en la generación 16-O y el apoyo en este proyecto.

A la **Dra. Xochitl Guzmán García**, por su apoyo incondicional, oportunidades, asesoría y desvelos, regañones, consejos tanto en el ámbito profesional como personal y por motivarme en todo momento para buscar ser un mejor profesionista. ¡Mil Gracias!.

Al **Dr. Gerardo Figueroa Lucero** y a la **Dra. Macela Arteaga Silva** por aceptar asesorarme en el proyecto de maestría, por sus recomendaciones, consejos, apoyo y por hacerme cuestionar diferentes ángulos sobre mi proyecto. ¡Gracias!.

A la **Biol. e H. T. Irma Hernández Calderas** y al **H. T. Isaac Romero** por compartirme de su emoción y entusiasmo en la Histología y por apoyarme con las técnicas necesarias para desarrollar mis objetivos.

Al **M. en B. Roberto Jerónimo**, gracias por el apoyo recibido durante esta etapa de mi vida, por tu carisma sin igual, por tus chistes, tus consejos y por escucharme siempre que lo necesité, ¡gracias por ser mi amigo!.

Al **candidato a Doctor Felipe Muñoz**, por el apoyo con la base de datos EtMIRA y desarrollo del software IINDEX-PH para la generación del cálculo de índices utilizados en este proyecto, ¡gracias por todo!.

A la **Dra. Marcela Galar Martínez** y al **Dr. Eloy Gasca Pérez** por abrirme las puertas de su laboratorio, enseñanzas, asesoría, tiempo invertido y sobre todo por su gentileza, ¡Gracias!.

Al **Dr. Juan Carlos Segoviano Ramírez**, **Dr. Jaime García Juárez** y al **Dr. Daniel López Altamirano** por aceptarme en su laboratorio dentro de una breve estancia de investigación, por su gran humildad al compartirnos su vasto conocimiento, y su increíble disposición al explicarnos las técnicas y equipo utilizado.

A mis amigos: **Carlos Fernández**, gracias por tus consejos, risas, y gran apoyo durante esta etapa de mi vida, **Misael Hernández** y **Ángel Vázquez**, mis hermanitos de Maestría, no se qué hubiera hecho sin ustedes, la vida es eso que pasa mientras estamos haciendo otros planes, ustedes son “eso que pasa” y agradezco mi suerte por haberme topado con ustedes.

## Índice

Resumen .....	0
Abstract .....	1
1. Introducción .....	2
2. Antecedentes.....	5
2.1.Toxicocinética .....	5
2.2 Estudios histopatológicos como biomarcadores de contaminación acuática.....	6
3.Justificación .....	11
4. Pregunta de Investigación.....	12
5. Hipótesis.....	12
6. Objetivo general .....	13
6.1. Objetivos Particulares .....	13
7. Área de estudio .....	14
8. Métodos .....	15
8.1. Análisis tisular.....	15
8.2. Análisis histopatológico.....	16
8.2.1. Protocolo para la observación de laminillas y análisis semi-cuantitativo de las alteraciones celulares.....	16
8.2.2. Diagnóstico de salud .....	17
8.2.3 Escala de valoración semi-cuantitativa de daño tisular .....	20
9. Resultados.....	21
9.1 Parámetros biológicos.....	21
9.2 Análisis tisular.....	21
9.2.1 Descripción tisular del hígado .....	21
9.2.2 Análisis histopatológico del hígado.....	24
9.2.3 Descripción tisular del músculo .....	26
9.2.4 Análisis histopatológico del músculo .....	27
9.2.5 Descripción tisular de la branquia.....	28
9.2.6 Análisis histopatológico de la branquia.....	30
9.3 Matriz de alteraciones asociadas a órganos blanco.....	33
9.4 Índices Histopatológicos.....	36
9.4.1 Estimación de los índices de reacción asociados al hígado (I <sub>rp</sub> ).....	36

9.4.2 Estimación del grado de lesión en el hígado de <i>S. cavalla</i> (I <sub>org</sub> ) .....	39
9.4.3 Estimación de los índices de reacción asociados al músculo (I <sub>rp</sub> ).....	40
9.4.4 Estimación del grado de lesión en el músculo de <i>S. cavalla</i> (I <sub>org</sub> ) .....	42
9.4.5 Estimación de los índices de reacción asociados a la branquia (I <sub>rp</sub> ) ..	43
9.4.6 Estimación del grado de lesión en branquia de <i>S. cavalla</i> (I <sub>org</sub> ).....	45
9.4.7 Estimación del índice total de salud.....	46
9.4.8 Estimación del índice total de reacción .....	47
10. Discusión .....	48
11. Conclusiones.....	53
12. Bibliografía .....	55
13. Anexos .....	60

## Índice de Figuras

<b>Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio. Municipio de Tecolutla, Veracruz.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 2. Protocolo para la estandarización de las alteraciones observadas en <i>S. cavalla</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 3. Aspecto tisular del hígado y de la tríada, se observan hepatocitos con característica forma poliédrica (1), vena (2) y sinusoides hepáticos (flecha). Tinción H-E.....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 4. Aspecto tisular del hígado y de la tríada, se observan cordones hepáticos y sinusoides (flecha). Tinción H-E. ....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 5. Aspecto tisular del hígado, se observan corte longitudinal de vena (flecha) y presencia de células sanguíneas (2). Tinción H-E.....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 6. Aspecto tisular de la tríada hepática, se observan conducto biliar (1), vena (2) y presencia de centro melanomacrófago (3). Tinción H-E.....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 7. Lesiones hepáticas, es posible observar congestión en sinusoides hepáticos (flecha), así como atrofia focal (2). Tinción H-E.....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 8. Lesiones hepáticas, se observan sinusoides hepáticos (flecha), y un centro melanomacrófago (2). Tinción H-E.....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 9. Lesiones hepáticas, se observan atrofia (1), hepatocitos vacuolados (flecha) y centro melanomacrófago (2). Tinción H-E.....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 10. Aspecto tisular del músculo, en A) se observa la epidermis (1), dermis (2), melanóforos o células de pigmento marrón (flecha) y en (3) fibras musculares. Tinción H-E. ....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 11. Aspecto tisular del músculo, se observa corte transversal de fibras o paquetes musculares, con característico núcleo periférico y en (1) vaso sanguíneo. Tinción H-E. ....</b>	<b>27</b>
<b>Figura 12. Aspecto de áreas congestivas en el músculo de <i>S. cavalla</i>, se observan la presencia de un vaso congestivo. Tinción H-E. ....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 13. Aspecto tisular de la branquia de <i>S. cavalla</i>, se observan lamela primaria (1), secundaria (2), fibras musculares (3) y cartílago hialino (4) Tinción H-E. ....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 14. Alteraciones presentes en la branquia de <i>S. cavalla</i>, se observa hiperplasia focal en lamelas secundarias (1) y edema lamelar (2). Tinción H-E.....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 15. Alteraciones presentes en la branquia de <i>S. cavalla</i>, se observa fusión lamelar focal en lamelas secundarias (1). Tinción H-E. ....</b>	<b>31</b>

Figura 16. Alteraciones presentes en la branquia de <i>S. cavalla</i> , se observa hiperplasia focal (1) y fusión lamelar (2).Tinción H-E. ....	32
Figura 17. Presencia de parásitos presentes en la branquia de <i>S. cavalla</i> . Tinción H-E. ....	32
Figura 18. Índice de reacción de disturbios circulatorios en hígado de <i>S. cavalla</i> . ....	37
Figura 19. Índice de reacción de cambios regresivos en hígado de <i>S. cavalla</i> .....	38
Figura 20. Índice de reacción de cambios progresivos en hígado de <i>S. cavalla</i> .....	38
Figura 21. Índice de lesión estimado en hígado de <i>Scomberomorus cavalla</i> ...	39
Figura 22. Índice de reacción de disturbios circulatorios en músculo de <i>S. cavalla</i> . ....	41
Figura 23. Índice de reacción de inflamación en músculo de <i>S. cavalla</i> .....	41
Figura 24. Índice de lesión estimado en músculo de <i>Scomberomorus cavalla</i> . ....	42
Figura 25. Índice de reacción de disturbios circulatorios en branquia de <i>S. cavalla</i> . ....	44
Figura 26. Índice de reacción de cambios progresivos en branquia de <i>S. cavalla</i> . ....	44
Figura 27. Índice de lesión estimado en la branquia de <i>Scomberomorus cavalla</i> . ....	45
Figura 28. Índice total de salud estimado para <i>Scomberomorus cavalla</i> . ....	46

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1. Relevancia patológica (FI) de las alteraciones observadas en el hígado de <i>S. cavalla</i>.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 2. Relevancia patológica (FI) de las alteraciones observadas en el músculo de <i>S. cavalla</i>.....</b>	<b>35</b>
<b>Tabla 3. Relevancia patológica (FI) de las alteraciones observadas en la branquia de <i>S. cavalla</i>. ....</b>	<b>36</b>
<b>Tabla 4. Índices histopatológicos promedio estimados en el hígado de <i>S. cavalla</i>.....</b>	<b>37</b>
<b>Tabla 5. Índices histopatológicos promedio estimados en el músculo de <i>S. cavalla</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 6. Índices histopatológicos promedio estimados en la branquia de <i>S. cavalla</i>.....</b>	<b>43</b>
<b>Tabla 7. Índices total de reacción estimados para <i>Scomberomorus cavalla</i>. 47</b>	

## Resumen

En el monitoreo de la contaminación acuática, se han propuesto protocolos histopatológicos que integran los efectos adversos a contaminantes como indicadores de la calidad del ambiente. En este trabajo se evaluó semicuantitativamente los cambios histopatológicos en el hígado, branquias y músculo de *Scomberomorus cavalla* a través de índices de lesión para la determinación del estado de salud. Se aplicó la escala de valoración semicuantitativa de daño tisular y se calcularon los índices de lesión descritos por Bernet *et al.* (1999). El análisis histopatológico, revela que las categorías de referencia que presentaron mayor relevancia en los órganos analizados fueron disturbios circulatorios y cambios progresivos en el hígado (centros melanomacrófagos) y branquia (hiperplasia y fusión lamelar). El diagnóstico de salud evaluado a partir de los índices de lesión corresponde a organismos con tejido y estructura normal, así como presencia de moderadas alteraciones histopatológicas. De acuerdo a la escala de valoración semicuantitativa de daño tisular, los índices de lesión estimados en el presente trabajo corresponden a aguas poco contaminadas, por lo cual el análisis histopatológico puede ser un biomarcador útil en la evaluación de la contaminación acuática.

## **Abstract**

In the environmental monitoring it has been pointed out the importance of using histopathological scoring system protocols to determine environmental stress. Therefore, the aim of this study was to evaluate semi-quantitatively the histopathological changes in the liver, gills and muscle of the fish *Scomberomorus cavalla* to determine the health status of the organisms. The study was conducted in Tecolutla, Veracruz, Mexico. The organs analyzed were included in paraffin, cut (5 µm) and stained with H-E. A total of 63 slates (N = 7) were analyzed under an optical microscope. A modified version of the quantitative histological protocol described by Bernet *et al.* (1999) was used to evaluate target organs. Every alteration was assigned an importance factor and a score value based on the percentage of occurrence. The histopathological analysis reveals that the reference categories that presented greater relevance in the organs analyzed were circulatory disturbances and progressive changes in the liver (melanomacrophage centers) and gill (hyperplasia and lamellar fusion). The health diagnosis evaluated from the health indexes corresponds to organisms with normal tissue and structure, as well as the presence of moderate histopathological alterations. According to the scale of semiquantitative assessment, the lesion rates estimated in the present work correspond to poorly contaminated water, hence histopathological analysis can be a useful biomarker in the evaluation of aquatic contamination.

## **1. Introducción**

Los ecosistemas marinos son altamente dinámicos, una de las principales causas por las que los contaminantes afectan de manera particular a los ecosistemas acuáticos es la estructura de las redes tróficas. A diferencia de los sistemas terrestres, la biomasa de los sistemas acuáticos se distribuye en una mayor diversidad de niveles tróficos, motivo por el cual los contaminantes tienden a alcanzar mayor concentración en depredadores acuáticos (Förstner & Wittmann, 1981).

La Ecotoxicología es la rama de la Toxicología concerniente al estudio de los cambios y efectos que los contaminantes químicos ejercen sobre el componente biótico (Truhaut, 1977; Di Giulio & Hinton, 2008). Las respuestas biológicas de los organismos que han sido expuestos, o afectados por agentes tóxicos pueden presentarse en diferentes niveles de organización biológica, por lo cual la ubicación intermedia del análisis histopatológico; como un biomarcador, proporciona una advertencia temprana de los daños producidos en órganos/tejidos antes de que se produzcan efectos irreversibles a niveles de organización más elevados (Bernet, Schmidt, Meier, Burkhardt-Holm, & Wahli, 1999).

Los organismos bioindicadores; como integradores de las respuestas ecológicas a la exposición de diversos contaminantes (centinelas), permiten a través de cambios en su estructura (a nivel molecular, celular, bioquímico, fisiológico o de conducta) evaluar la salud del ecosistema (Adams & Greeley, 2000; Capó Martí, 2007).

Debido a su diversidad biológica, relevancia social, sensibilidad a estresores, así como su amplitud de respuesta biológicas, los peces son considerados buenos indicadores de la calidad del medio. *Scomberomorus cavalla*, comúnmente conocido como Peto, presenta un importante papel como depredador tope dentro del ecosistema y dadas sus altas exigencias metabólicas y rápido crecimiento, puede dar lugar a la incorporación de altas concentraciones de metales y otros contaminantes en sus tejidos, incluyendo el músculo, lo cual dada su importancia comercial, constituye un riesgo para la salud humana (Ploetz, Fitts, & Rice, 2007).

La exposición de los peces a diversos contaminantes químicos induce lesiones en diferentes órganos blanco, particularmente en el hígado y branquias. De acuerdo a Liebel et al. (2013), el hígado es un órgano de particular interés ya que se encuentra relacionado con mecanismos de desintoxicación y metabolización. Asimismo, las branquias se encuentran en directo y permanente contacto con el agua, por lo que representan un órgano blanco importante para los contaminantes disueltos en el agua.

Existen algunos estudios que han determinado la concentración de algunos metales tóxicos como el Hg, Pb y Cr en los tejidos de *Scomberomorus cavalla*, en el cual se han observado el efecto de lesiones reversibles en órganos como el hígado y músculo (Ramírez-Trejo, 2015). Sin embargo existe poca información estandarizada que permita determinar el estado de salud bajo un protocolo que asocie la contaminación acuática y el factor de impacto de la lesión (Mitchell et al., 2012; Pereira et al., 2012; Donatii et al., 2014) ya que se requiere de categorizar estas lesiones, por lo cual se han propuesto calcular índices específicos como; 1)

el análisis del grado de lesión por órgano, 2) Índice de reacción, 3) índice de salud por individuo y 4) Índice total de reacción, a través de los cuales es posible determinar el diagnóstico de salud de los organismos analizados (Bernet et al., 1999). Actualmente existen estudios histopatológicos que buscan integrar mediante índices de salud, los efectos adversos a la exposición ambiental, sin embargo los protocolos de evaluación no se han estandarizado y existen diferencias importantes que complican determinar el estado de salud de los peces y de manera indirecta el estado que guardan con el ambiente donde se desarrollan, por ello es importante, generar y aplicar lineamientos que permitan la interpretación del estado fisiológico de los peces, dentro de los programas de vulnerabilidad ecológica, manejo de sistemas y el control de la contaminación, entre otros.

## **2. Antecedentes**

### **2.1. Toxicocinética**

La relación entre la concentración de contaminantes inorgánicos en los tejidos, así como su potencial efecto tóxico dependen del entendimiento de la cinética de incorporación, distribución y eliminación de contaminantes. La acumulación de contaminantes en los tejidos se puede llevar a cabo mediante dos rutas: la “bioconcentración”, definida como la incorporación de un químico a través de la columna de agua (medio abiótico), dando como resultado una mayor concentración dentro del organismo y la “bioacumulación”, la cual puede comprender la entrada de contaminantes a través de diferentes fuentes, abióticas o bióticas (ingesta). Al incremento de la concentración de contaminantes entre niveles tróficos se define como “biomagnificación”, efecto de la transferencia de xenobióticos provenientes del alimento a organismos (Gray, 2002).

La entrada y acumulación de contaminantes en peces, se lleva a cabo principalmente en las branquias ya que estos químicos están involucrados en la ruta acuosa. Los tóxicos pueden interactuar con las branquias y con las células branquiales endoteliales, dependiendo de la composición química de los tóxicos, estos pueden atravesar la membrana plasmática por difusión pasiva a través del tejido epitelial, de ahí que los compuestos toman la ruta más directa al hígado. En el caso de la ruta intestinal; los contaminantes que se encuentran disueltos en el agua, son absorbidos en el tracto intestinal debido a la entrada de compuestos contenidos en la dieta. La tasa de absorción de estos compuestos a través del

epitelio gastrointestinal, se encuentra regulada por difusión simple y es fundamental debido a que el metabolismo dentro de la pared intestinal se vuelve una entrada prioritaria hacia el hígado, por lo cual el hígado es un órgano blanco importante en la concentración de contaminantes, sin embargo existen otros órganos que pueden ser blanco de agentes contaminantes (Di Giulio, Richard T., Hinton, 2008).

## **2.2 Estudios histopatológicos como biomarcadores de contaminación acuática**

Dentro de los estudios histopatológicos que han utilizado análisis semi-cuantitativos para evaluar el daño en células, tejidos u órganos expuestos a agentes contaminantes, Donatti y colaboradores (2014) analizaron el hígado y branquias en dos especies de peces, *Notothenia coriiceps* y *Notothenia rossii*, colectados en la Bahía Almirantazgo, Antártida. De acuerdo a estudios previos realizados en el área de estudio, la Antártida ha sido afectada por eventos esporádicos de contaminación, generados por el incremento en la actividad humana. Histopatológicamente la única alteración observada en el hígado fue necrosis, la cual se observó únicamente en la especie *N. coriiceps*. En relación a las alteraciones observadas en la branquia, registraron hiperplasia, aneurisma así como desprendimiento lamelar. Cabe destacar que la ocurrencia de las alteraciones observadas fue puntual, afectando solamente a un pequeño número de organismos. Indicando que de acuerdo a los valores promedio ( $I_{org}=6$ ) calculados por el índice propuesto por Bernet *et al.* (1999), la especie *N. coriiceps* presentó mayor sensibilidad a las presiones ambientales (Donatti et al., 2014).

Pereira *et al.* (2012) realizaron un bioensayo subagudo con larvas de la especie *Odontesthes argentinensis*, a las cuales expusieron por 21 días a una solución de petróleo disuelto en agua, a concentraciones de 2.5, 5, 10 y 20 %. En relación al análisis histopatológico, evaluaron alteraciones presentes en branquia (hiperplasia, aneurisma, edema y necrosis), riñón ( alteraciones nucleares, disminución de células hematopoyéticas) e hígado ( hipertrófia y cariopcnosis). De acuerdo al análisis semi-cuantitativo, los valores obtenidos a partir del índice de órgano estimado para la branquia mostraron un aumento directamente proporcional entre el grupo control y los distintos tratamientos, registrando una diferencia significativa entre la concentración de 20% ( $I_{org} = 60.4$ ) y la de 2.5 y 5% ( $I_{org} = 15.7$  y  $28.6$ , respectivamente) (Pereira G et al., 2012).

Por otro lado, van Dyk y colaboradores (2012) evaluaron el estado de salud de *Clarias gariepinus* en un espectro amplio de regiones geográficas que incluían desde sitios prístinos y aislados hasta sitios contaminados y eutrofizados. Registrando que en los sitios altamente contaminados se observó una mayor ocurrencia de las alteraciones pre-neoplásicas y no-neoplásicas. De acuerdo al análisis histopatológico del hígado, las alteraciones que más se observaron en todos los sitios de muestreo analizados, fueron las asociadas a cambios regresivos. Cabe destacar que de todas las alteraciones observadas, los centros melanomacrófagos fueron los más frecuentes, presentándose en más del 50% de los organismos analizados, incluyendo tanto las zonas de referencia así como los sitios más contaminados. Los valores promedio del índice de órgano para el hígado, fueron significativamente más elevados en peces colectados en sitios contaminados ( $I_{org} =$

>30), que los analizados en sitios prístinos ( $I_{org} < 10$ ). Concluyendo que el análisis histopatológico del hígado es un biomarcador útil de la contaminación acuática.

Mitchell *et al.* (2012) desarrollaron un protocolo histopatológico semi-cuantitativo, en el cual utilizaron criterios auxiliares para la evaluación de la branquia del salmón del atlántico (*Salmo salar*). Dentro de estos criterios, se consideraron el índice de órgano, así como la presencia o ausencia de alteraciones menos frecuentes y patógenos específicos. En relación con el análisis semi-cuantitativo, asignaron una escala con valores numéricos del 0 al 24, obteniendo un promedio de 2, el cual corresponde a alteraciones con mínima ocurrencia, registrando dentro de las alteraciones más frecuentes: hiperplasia lamelar moderada, fusión lamelar, necrosis y congestión.

Asimismo Marchand *et al.* (2009) evaluaron a través de un protocolo histopatológico semi-cuantitativo el estado de salud del pez gato *Clarias gariepinus*. Dentro de las alteraciones que observaron en el tejido hepático, registraron que el 27% de los organismos analizados presentaron alteraciones estructurales en cordones hepáticos, alteraciones plasmáticas en hepatocitos (degeneración granular 98%), hepatocitos vacuolados (25%) y necrosis (14%). El análisis cuantitativo, calculado para dos zonas de referencia ubicadas dentro de una reserva natural localizada en Gauteng, Sudáfrica, registró que los valores promedio más elevados se encontraron en el cuerpo de agua cercano a los límites de la reserva ( $I_{org}=27.6$ ), en época de corrientes altas. De acuerdo a los resultados obtenidos, se observó que ambos cuerpos de agua se encontraron altamente contaminados, manifestándose en el

número de alteraciones observadas en los organismos (Marchand, Dyk, Pieterse, Barnhoorn, & Bornman, 2009).

A su vez, Zimmerli y colaboradores (2007) evaluaron el estado de salud de la especie *Salmo trutta*, en cuatro ríos suecos. Histopatológicamente, observaron las alteraciones presentes en el hígado (sinusoides distendidos, cambios en citoplasma, necrosis focal, activación del sistema retículo endotelial e infiltración de linfocitos y macrófagos) y riñón (necrosis focal en túbulo renal, depósitos en cápsulas de Bowman, alteraciones en la estructura glomerular, hiperplasia, entre otras). De acuerdo al análisis semi-cuantitativo, desarrollaron una escala de valoración al protocolo propuesto por Bernet *et al.* (1999). Esta escala considera valores de <10 del índice histopatológico: como estructuras normales y sin cambios patológicos, de 11-20: modificaciones mínimas en la estructura y morfología del tejido normal, 21-30: modificaciones moderadas en estructura y morfología, 31-40: modificaciones pronunciadas y >40: alteraciones severas presentes en la estructura y morfología. Con base a los resultados obtenidos, el 6% de los organismos analizados, presentó valores en el índice del hígado de <10, 79% presentó modificaciones mínimas ( $I_{org} = 11-20$ ), 14% modificaciones moderadas ( $I_{org} = 21-30$ ), y el 1% presentó alteraciones severas ( $I_{org} < 31$ ). Respecto al análisis en el riñón, el 41.52% presentó valores dentro del rango de 5-10, 40% de 11-20, 4% de 21-30 y el 3% presentó valores mayores a 31. Las alteraciones analizadas presentaron un rango de mínimo a moderadas, observándose un incremento en el índice de órgano en sitios con mayor actividad antropogénica, sin embargo no se

encontró una correlación directa entre los parámetros ambientales reportados con efectos tóxicos para los peces (amonio y nitritos).

### **3. Justificación**

En México, los estudios de evaluación de la contaminación ambiental se encuentran en fase de desarrollo, por lo cual es trascendente considerar herramientas que permitan evaluar el efecto de los contaminantes sobre los organismos. Una herramienta muy útil en el biomonitoreo de la contaminación es el análisis histopatológico, el cual, debido a su posición intermedia en los niveles de organización biológico, es un buen indicador del grado de exposición a contaminantes, particularmente de los efectos crónicos y sub-letales en los organismos. En diversos estudios se han propuesto protocolos histopatológicos, como herramientas rápidas y de bajo costo, que permiten evaluar cambios en la condición o estado de salud de los organismos. Actualmente existe información acerca de la presencia de contaminantes en altas concentraciones sobre especies marinas de importancia comercial y económica en áreas costeras del Golfo de México (Botello, 2001), sin embargo los protocolos de evaluación no se han estandarizado y la información generada está desvinculada, por lo cual algunos sitios de importancia turística y comercial carecen de índices o indicadores que coadyuven al buen manejo y control de calidad de los recursos explotados. Tal es el caso del pez *Scomberomorus cavalla*, especie de importancia económica y debido a su consumo, de interés para la salud humana, cuya explotación se desarrolla en Tecolutla, Veracruz.

#### **4. Pregunta de Investigación**

¿El análisis histopatológico del hígado, músculo y branquias del pez *Scomberomorus cavalla* a través de las categorías de referencia patológica y de los índices de lesión permitirá determinar el diagnóstico de salud y la contaminación acuática?

#### **5. Hipótesis**

Si las categorías de referencia patológica permiten calcular índices de lesión en el hígado, músculo y branquias del pez *Scomberomorus cavalla*, entonces se podrá establecer un diagnóstico de salud y generar un protocolo que pueda ser utilizado en la evaluación de la contaminación acuática.

## **6. Objetivo general**

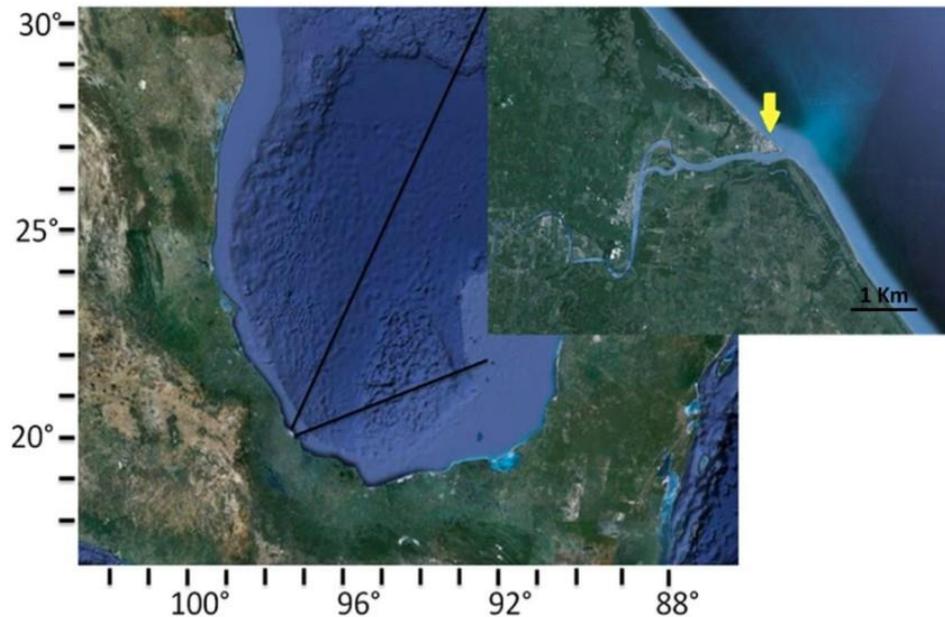
Evaluar los cambios histopatológicos en hígado, branquias y músculo del pez *Scomberomorus cavalla* para la determinación del análisis cuantitativo de los índices de lesión y el diagnóstico de salud.

### **6.1. Objetivos Particulares**

- Analizar la estructura tisular del hígado, músculo y branquias de *S. cavalla*.
- Determinar posibles cambios histopatológicos en hígado, músculo y branquia.
- Generar una matriz de alteraciones para la categorización de los cambios histopatológicos en hígado, músculo y branquia.
- Determinar el factor de impacto y la intensidad de reacción en los órganos analizados.
- Evaluar el estado de salud de los organismos a partir la cuantificación de índices de lesión.

## 7. Área de estudio

Se analizaron 63 laminillas (378 campos) de sub-muestras de tejido muscular, branquias e hígado de la especie *Scomberomorus cavalla*, los 7 organismos fueron colectados en el municipio de Tecolutla, Veracruz, el cual colinda al norte con Papantla, al sur con los municipios de Martínez de la Torre y San Rafael, al oeste con Gutiérrez Zamora y al este con el Golfo de México. Se encuentra ubicada entre los paralelos  $96^{\circ} 59' 849''$  W y  $20^{\circ} 27' 628''$  N. El tipo de clima es cálido húmedo con abundantes lluvias en verano (98%) y cálido subhúmedo con lluvias en verano (2%). El río Tecolutla es colector de varios afluentes, dentro de las principales se encuentran los ríos Xiucayucan, Tehuantepec y Laxaxalpan (Jeronimo Juarez, 2013).



**Figura 1.** Ubicación geográfica del área de estudio. Municipio de Tecolutla, Veracruz.

## 8. Métodos

### 8.1. Análisis tisular

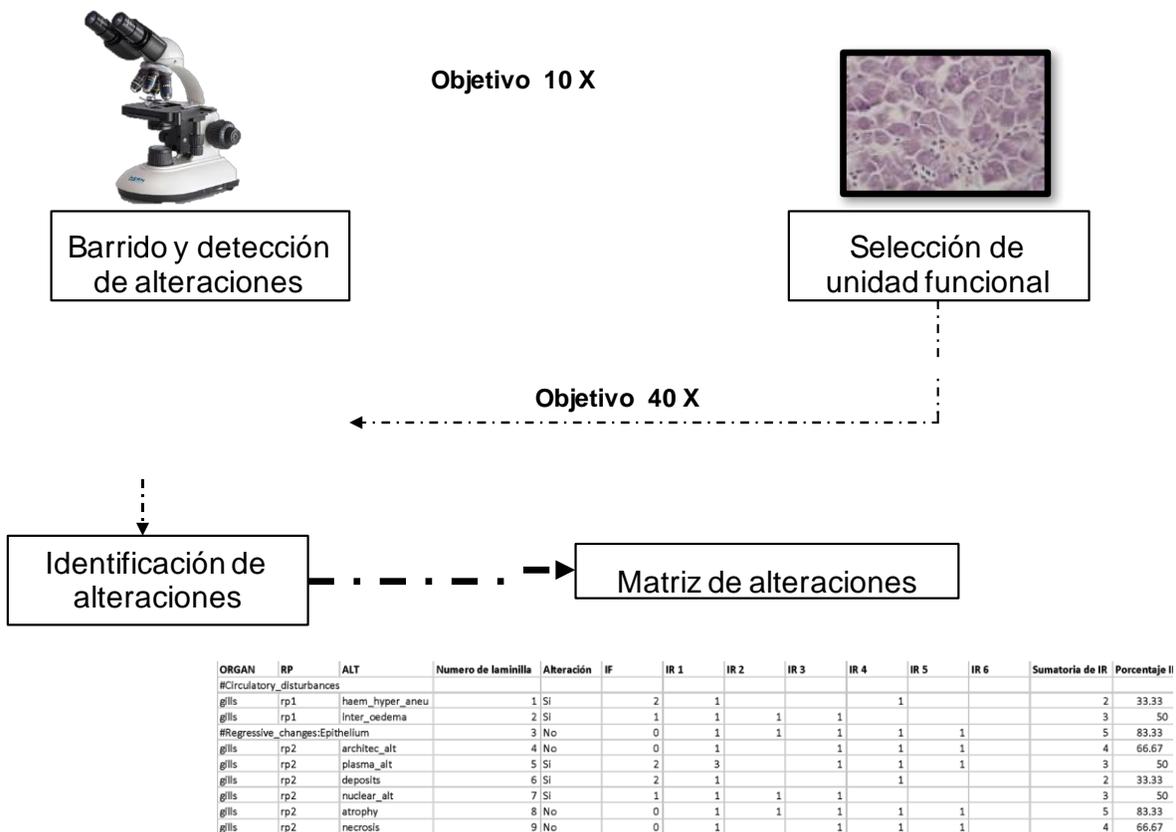
Las sub-muestras de hígado, músculo y branquias fueron fijadas en formol amortiguado al 10% por un periodo de 48 horas, transcurrido este tiempo se realizaron cortes de al menos 1cm<sup>3</sup> y se colocaron en histocassettes. Para la descalcificación de las branquias, se utilizó una solución de ácido nítrico al 10% (1 hora) y posteriormente una solución sobresaturada de carbonato de litio para neutralizar el pH de este tejido (1 hora). Las muestras fueron deshidratadas e infiltradas en un procesador automático de tejidos (marca LEICA modelo TP1020) durante un periodo de 19 horas. Los tejidos ya deshidratados e infiltrados se incluyeron en un medio de parafina marca PARAPLAST de Leica Microsystems, mediante un centro de inclusión (marca LEICA modelo EG1140H). De cada sub-muestra se obtuvieron cortes de 5 micras a partir de un micrótopo rotatorio (MICROM modelo HM 3156) y posteriormente cada tejido fue teñido mediante la técnica de Hematoxilina-Eosina por tiempos ya estandarizados (**Anexo 1**). Para cubrir los tejidos se utilizó una resina sintética de montaje marca GOLDEN BELL al 50% y se dejaron secar en una estufa FELISA modelo 131 (Guzmán -García, 2007).

## **8.2. Análisis histopatológico**

Para el análisis histopatológico del hígado, músculo y branquias se elaboró una matriz de prevalencia de lesiones asociadas con disturbios circulatorios, cambios regresivos y progresivos en los órganos estudiados, contabilizando el número de lesiones presentes por cada organismo. Posteriormente cada lesión tisular fue asociada con un Factor de impacto propuesto por Bernet *et al.* (1999), en el cual asigna a los valores de “0” como ausencia de lesiones tisulares, “1” corresponde a lesiones fácilmente reversibles (mínima importancia patológica), “2” lesiones reversibles (moderada importancia patológica) y “3” lesiones generalmente irreversibles (severa importancia patológica). Estandarizadas las respuestas tisulares, se procedió al análisis cuantitativo mediante el cálculo del índice de lesión.

### **8.2.1. Protocolo para la observación de laminillas y análisis semi-cuantitativo de las alteraciones celulares**

Para el análisis semi-cuantitativo de las alteraciones observadas se elaboró un protocolo para la estandarización del número de campos a observar por cada laminilla (6 campos por laminilla), esto con la finalidad de establecer la intensidad de reacción (0-6), parámetro necesario para el cálculo de los índices de lesión **(Figura 2)**.



**Figura 2.** Protocolo para la estandarización de las alteraciones observadas en *S. cavalla*.

### 8.2.2. Diagnóstico de salud

El cálculo matemático del diagnóstico de salud se determinó con los siguientes índices: 1) Índice de órgano, 2) Índice de reacción, 3) índice de salud por individuo y 4) Índice total de reacción (diagnóstico de salud) (Bernet *et al.*, 1999), los cuales se calcularon en el software IINDEX-PH: Índice de impacto de contaminación y salud, desarrollado en el laboratorio de Histología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

## 1) Índice de órgano

Para cuantificar el grado de lesión en un órgano se utilizó el índice propuesto por Bernet *et al.*, 1999.

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

En dónde *org* representa la constante órgano; *rp*= la prevalencia de lesiones; *alt*= alteraciones; *a*= grado de alteración de la lesión (con valores del 0 al 6) y *w*= Factor de importancia. Este índice nos permite comparar el grado de lesión de un órgano específico entre diferentes individuos.

## 2) Índice de reacción

$$I_{org\ rp} = \sum_{alt} (a_{org\ rp\ alt} \times w_{org\ rp\ alt})$$

Dónde *org*, *rp*= constante; *w*= Factor de importancia y se entiende como la suma de la multiplicación del Factor de importancia y de los valores asociados al nivel de alteración en un órgano específico.

### 3) Índice total de salud (diagnóstico de salud)

$$Tot - I = \sum_{org} \sum_{rp} \sum_{alt} (a_{org rp alt} \times w_{org rp alt})$$

En dónde *org* representa al constante órgano; *rp*= la prevalencia de lesiones; *alt*= alteraciones; *a*= grado de alteración de la lesión (con valores del 0 al 6) y *w*= Factor de importancia. A partir de este índice es posible cuantificar el estado fisiológico general del organismo y se obtiene a partir de la sumatoria de todos los índices del grado de lesión de cada órgano analizado.

### 4) Índice total de reacción

$$I_{rp} = \sum_{org} \sum_{alt} (a_{org rp alt} \times w_{org rp alt})$$

Este índice representa los valores cualitativos de las lesiones tisulares observadas en todos los tejidos dañados en un organismo, a través de este índice es posible comparar el estado fisiológico de diferentes individuos.

### 8.2.3 Escala de valoración semi-cuantitativa de daño tisular

Los valores obtenidos a partir de los índices de órgano fueron clasificados de acuerdo a la severidad de la respuesta histopatológica, por lo cual se consideró la escala de valoración semi-cuantitativa propuesta por Zimmerli y colaboradores (2007) y modificada por JC van Dyk *et al.* (2009).

- Clase 1 ( $I_{org} < 10$ )= tejido y estructura normal, presencia de alteraciones mínimas.
- Clase 2 ( $I_{org} 10-25$ )= tejido y estructura normal, presencia de alteraciones moderadas.
- Clase 3 ( $I_{org} 26-35$ )= alteraciones pronunciadas en órgano.
- Clase 4 ( $I_{org} > 35$ )= alteraciones severas en órgano.

## **9. Resultados**

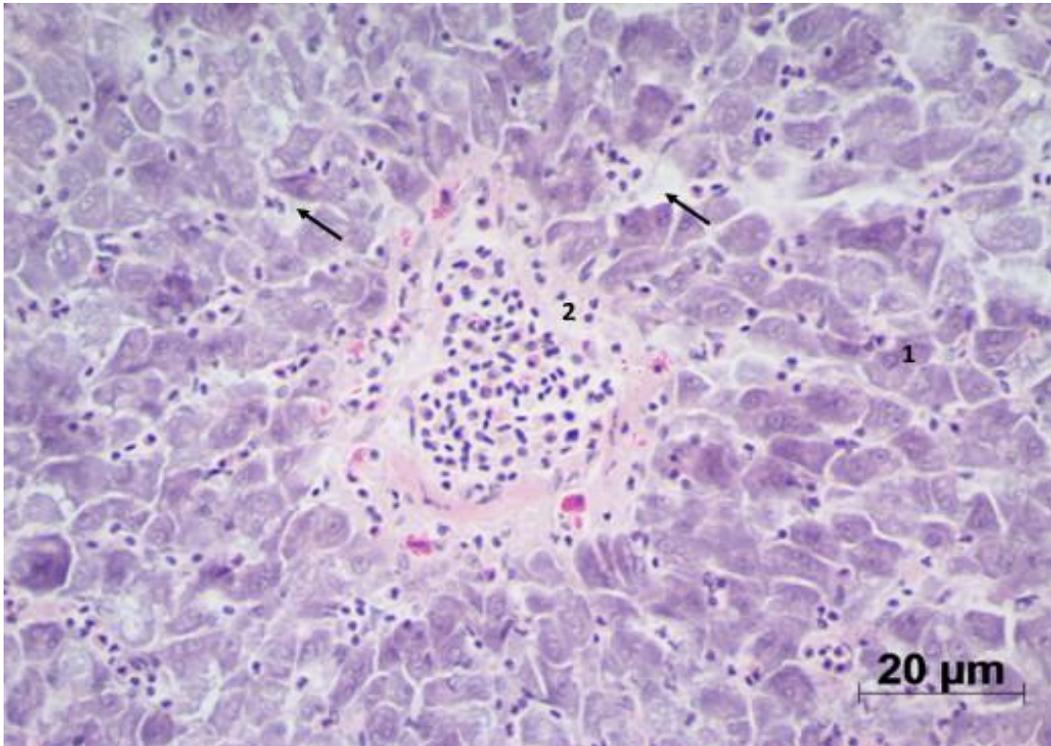
### **9.1 Parámetros biológicos**

La caracterización taxonómica, la longitud y peso corresponden a los de la especie descrita. No se registraron lesiones aparentes, hongos o bacterias, malos olores o ectoparásitos en el 90% de los organismos analizados, no obstante y aunque no es el objetivo de este trabajo, se observó la presencia de endoparásitos en hígado, gónada y branquia del 10% analizado por lo que no se determinaron ni fueron incluidos en la escala de valoración (Ramírez Trejo, 2015).

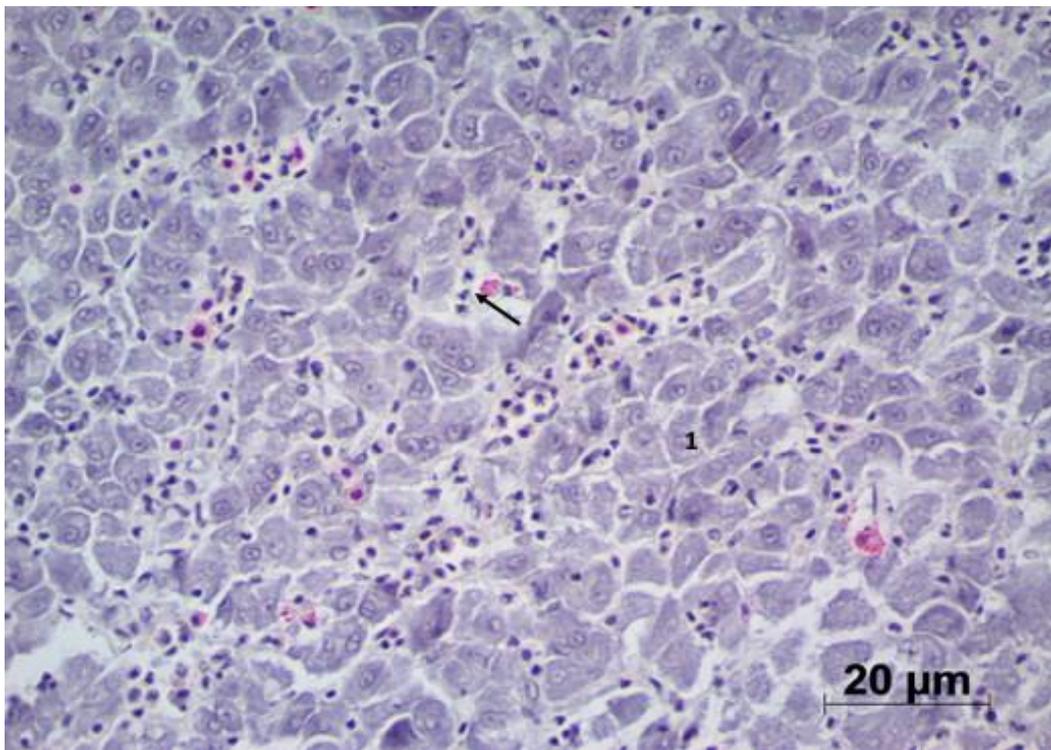
### **9.2 Análisis tisular**

#### **9.2.1 Descripción tisular del hígado**

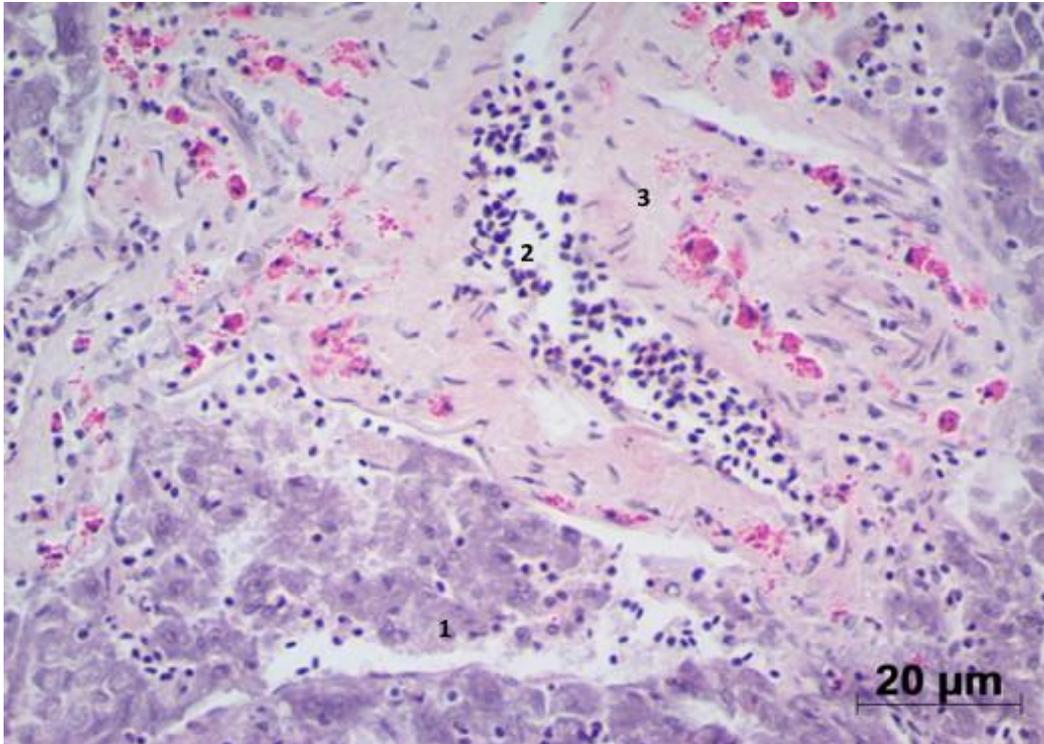
El parénquima hepático está compuesto principalmente por hepatocitos de forma poliédrica y núcleo redondo central. Al igual que los mamíferos, la arteria hepática y la vena porta ingresan al hígado y se ramifican en capilares llamados sinusoides. Las porciones terminales de los sistemas porta hepático y de la arteria hepática, se encuentran asociadas en una trama de tejido conjuntivo, el cual junto con los conductos biliares forman el denominado espacio porta o tríada portal, unidad estructural y funcional del hígado. No obstante, desde el punto de vista histológico el hígado carece de la típica triada portal descrita en mamíferos, por lo cual los conductos biliares y las ramas de la arteria hepática y vena porta se encuentran distribuidos por todo el parénquima, donde cordones de hepatocitos se disponen alrededor de los sinusoides (**Figuras 3-6**).



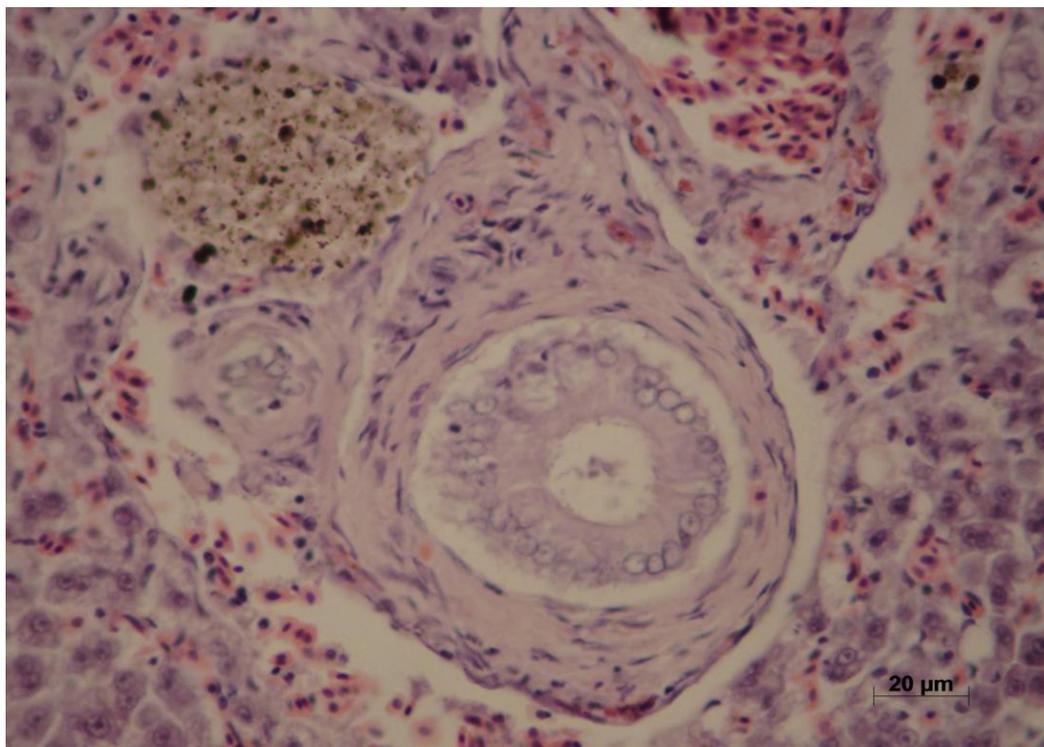
**Figura 3.** Aspecto tisular del hígado y de la tríada, se observan hepatocitos con característica forma poliédrica (1), vena (2) y sinusoides hepáticos (flecha). Tinción H-E.



**Figura 4.** Aspecto tisular del hígado y de la tríada, se observan cordones hepáticos y sinusoides (flecha). Tinción H-E.



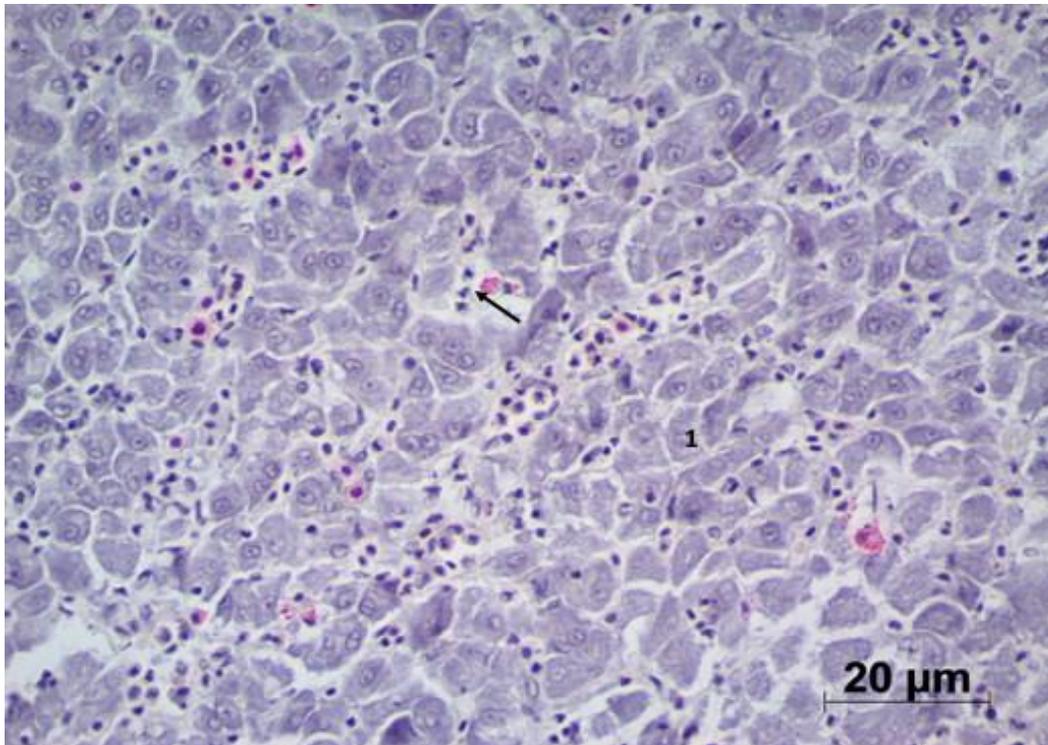
**Figura 5.** Aspecto tisular del hígado, se observan corte longitudinal de vena (flecha) y presencia de células sanguíneas (2). Tinción H-E.



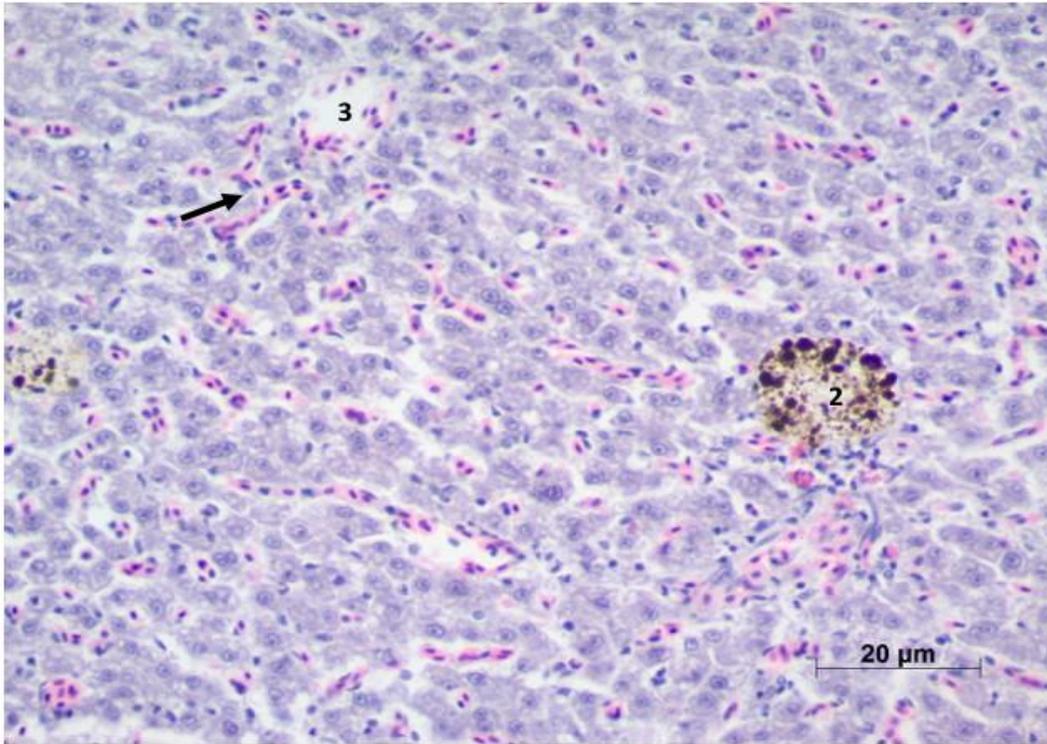
**Figura 6.** Aspecto tisular de la tríada hepática, se observan conducto biliar (1), vena (2) y presencia de centro melanomacrófago (3). Tinción H-E.

### 9.2.2 Análisis histopatológico del hígado

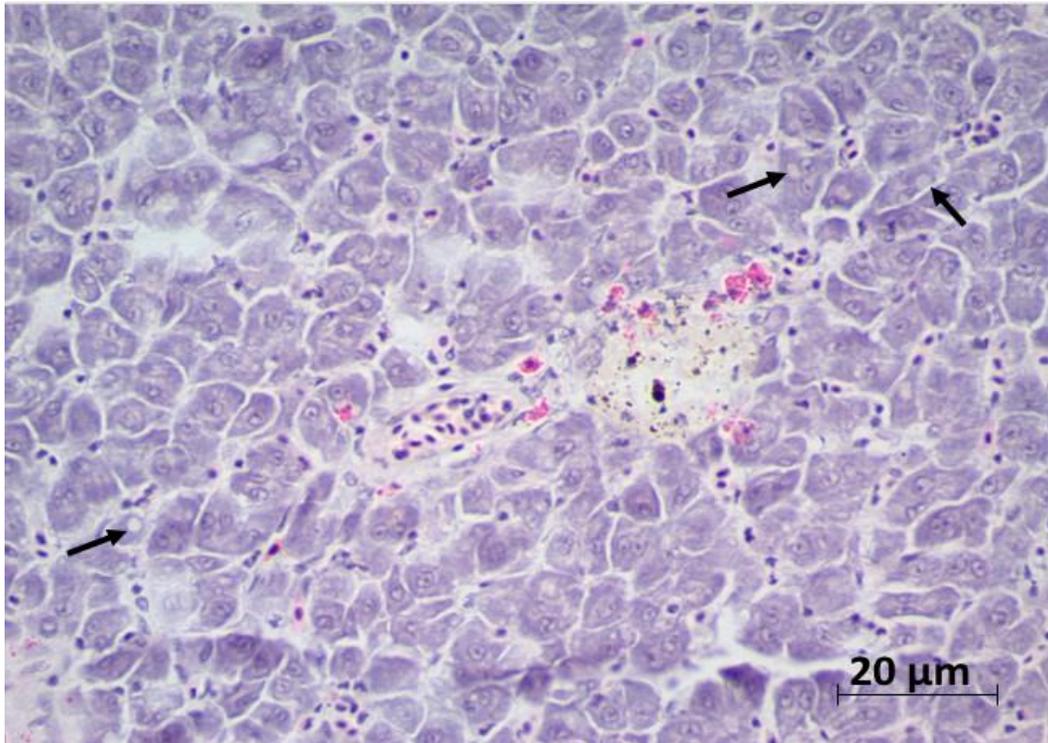
Más del 50% de los organismos analizados presentaron alteraciones tisulares, de las cuales en orden de relevancia patológica (de menor a mayor) fueron; en el hígado la presencia de alteraciones relacionadas con disturbios circulatorios (congestión y secreciones eosinófilas), cambios regresivos (atrofia de hepatocitos y hepatocitos vacuolados), cambios progresivos (centros melanomacrófagos), así como la presencia de inflamación (**Figuras 7-9**).



**Figura 7.** Lesiones hepáticas, es posible observar congestión en sinusoides hepáticos (flecha), así como atrofia focal (2). Tinción H-E.



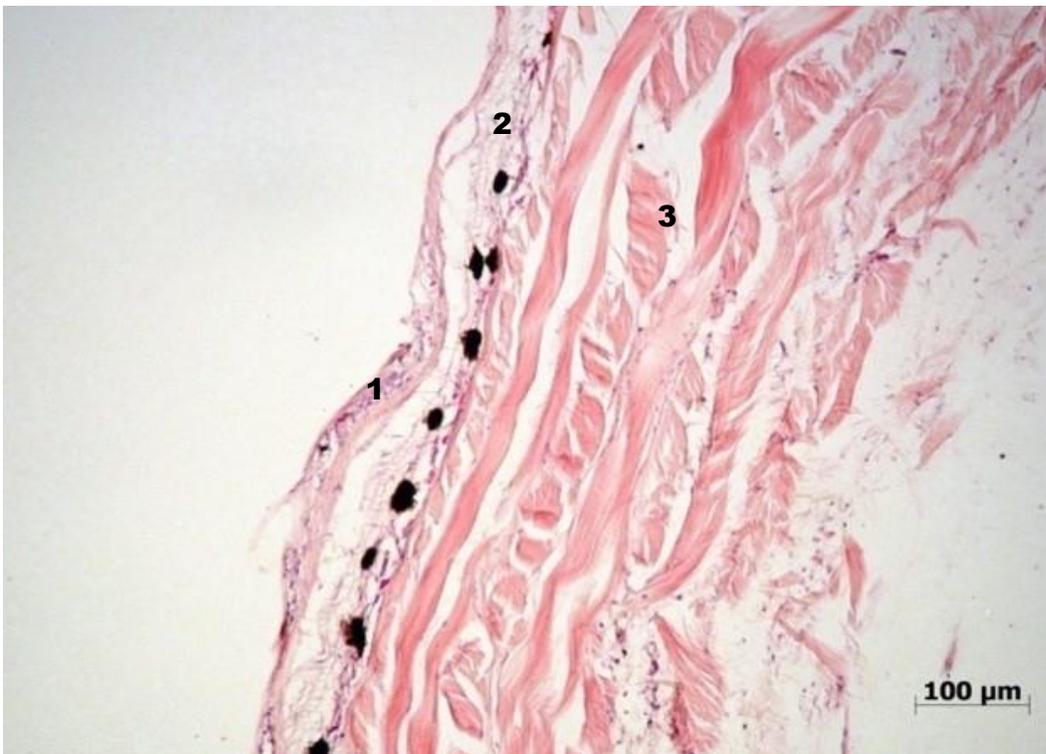
**Figura 8.** Lesiones hepáticas, se observan sinusoides hepáticos (flecha), y un centro melanomacrófono (2). Tinción H-E.



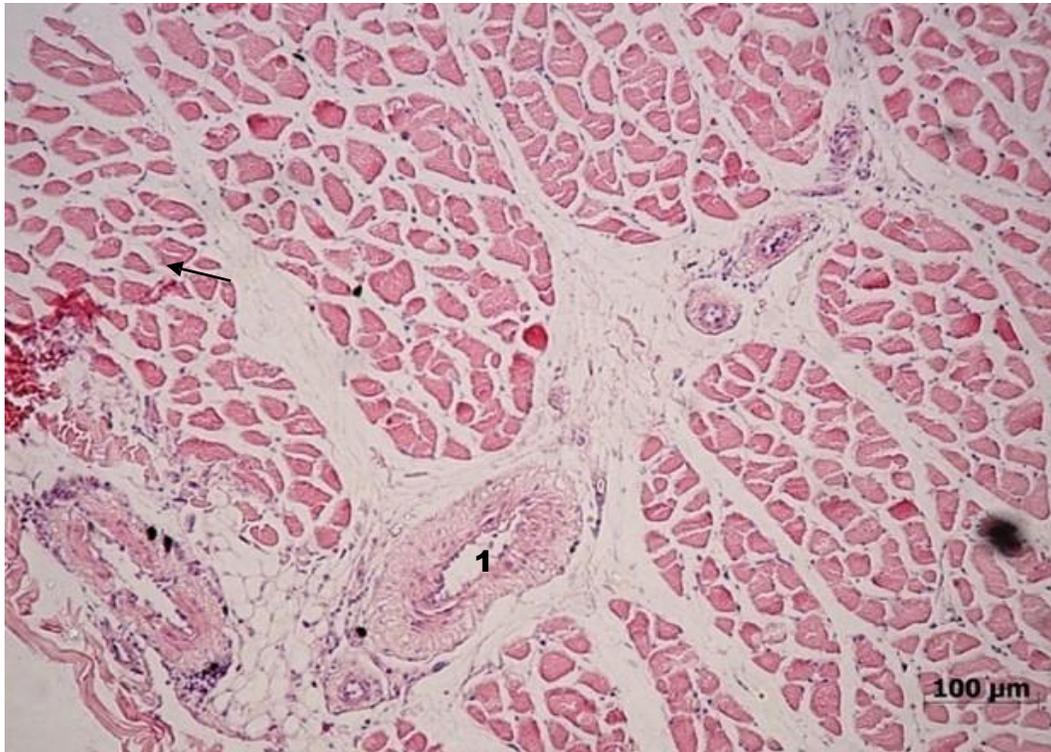
**Figura 9.** Lesiones hepáticas, se observan atrofia (1), hepatocitos vacuolados (flecha) y centro melanomacrófono (2). Tinción H-E.

### 9.2.3 Descripción tisular del músculo

En relación al tejido muscular, se observaron paquetes musculares de forma triangular y hexagonal con sus núcleos ovoides periféricos rodeados por tejido conectivo, en el cual se observaron la presencia de vasos, los cuales permiten la irrigación sanguínea del órgano (**Figuras 10 y 11**).



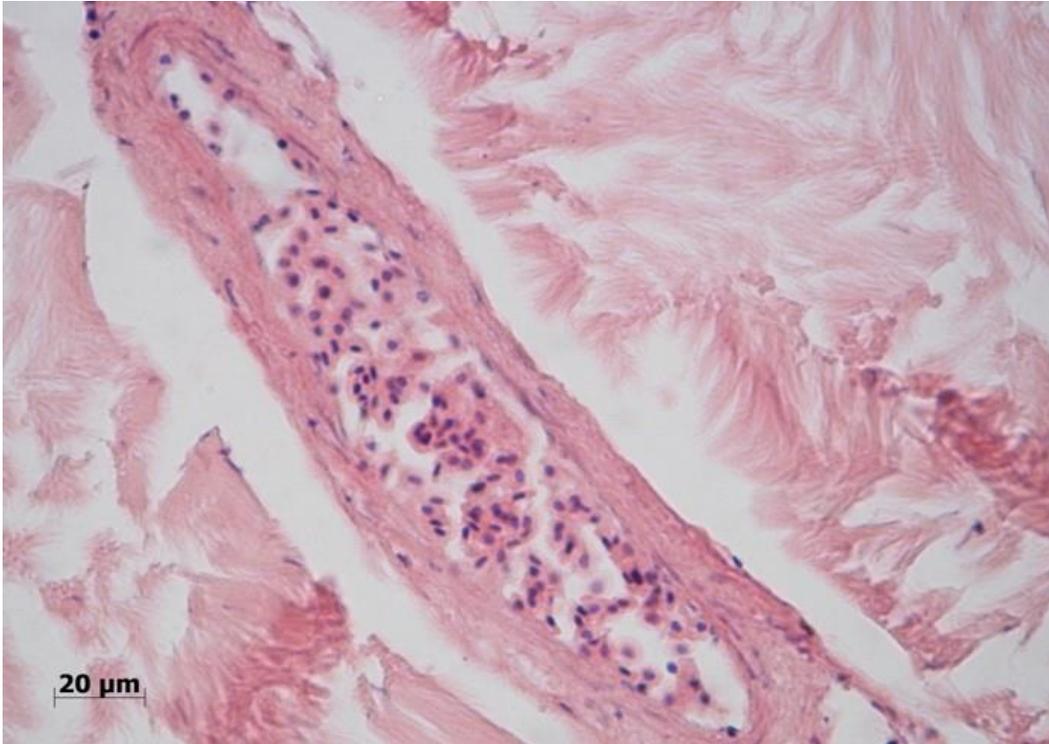
**Figura 10.** Aspecto tisular del músculo, en A) se observa la epidermis (1), dermis (2), melanóforos o células de pigmento marrón (flecha) y en (3) fibras musculares. Tinción H-E.



**Figura 11.** Aspecto tisular del músculo, se observa corte transversal de fibras o paquetes musculares, con característico núcleo periférico y en (1) vaso sanguíneo. Tinción H-E.

#### 9.2.4 Análisis histopatológico del músculo

En relación a las alteraciones observadas en el músculo, sólo se observaron la presencia de alteraciones asociadas a disturbios circulatorios (vasos congestivos) en menos del 20 % de los organismos analizados (**Figura 12**).

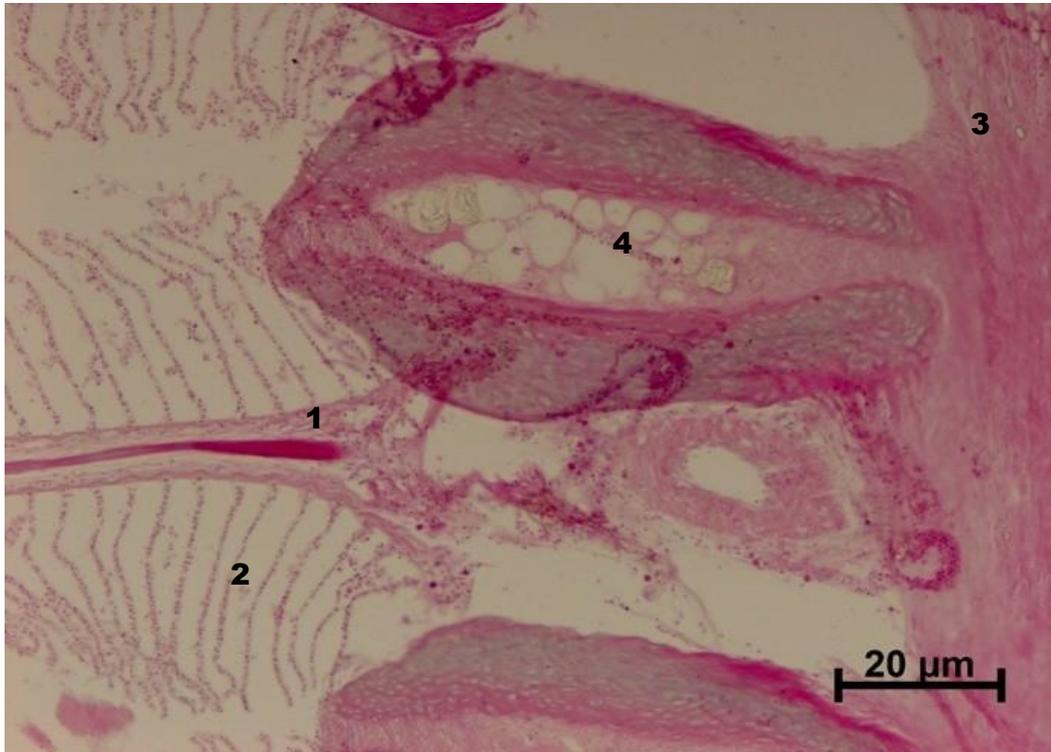


**Figura 12.** Aspecto de áreas congestivas en el músculo de *S. cavalla*, se observan la presencia de un vaso congestivo. Tinción H-E.

### 9.2.5 Descripción tisular de la branquia

En relación a la estructura general de la branquia, se pueden delimitar el arco branquial y los filamentos o lamelas primarias. El arco branquial está conformado por una estructura compacta de tejido óseo, la cual se encuentra cubierta por una membrana serosa, en donde discurren los vasos sanguíneos de mayor calibre, como son la arteria aferente del arco, la cual se ramifican en vasos de mediano calibre que irrigan a los filamentos y avanzan hasta la punta de la lamela, llevando sangre para el intercambio gaseoso. El retorno de la sangre se hace por la arteria eferente del arco, la cual drena vasos de menor calibre provenientes de los

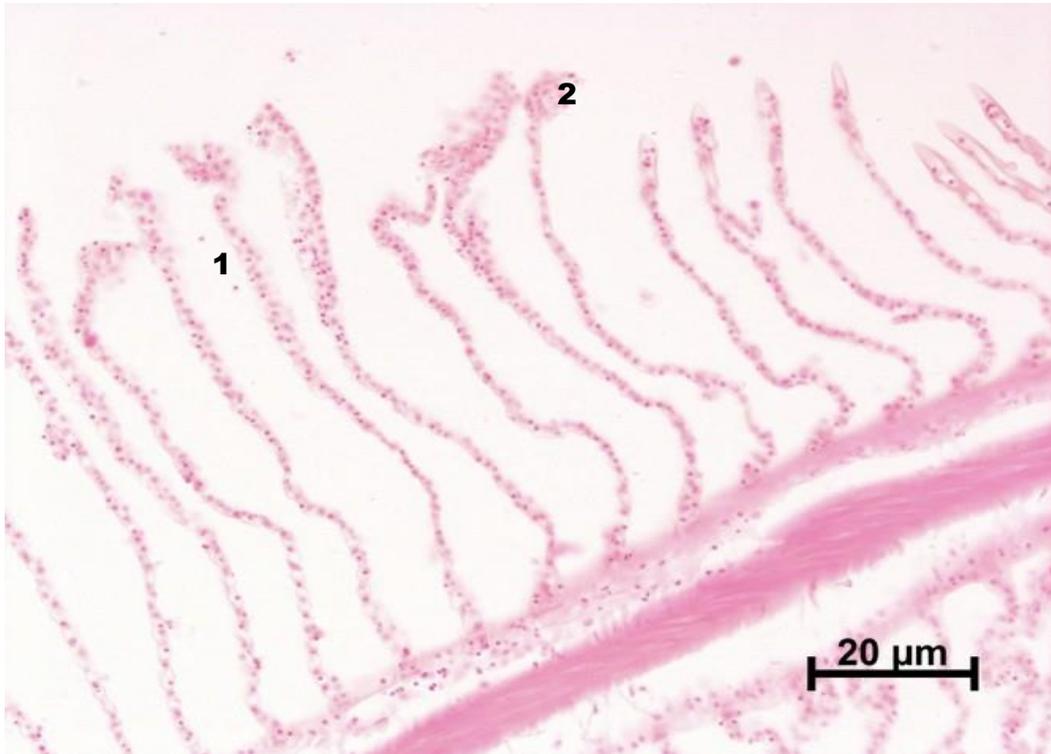
filamentos. En la parte ósea del arco branquial, se encuentra adherida una lámina de cartílago hialino, la cual se invagina proyectándose hacia los filamentos. En la base del filamento, se encuentran fibras musculares, las cuales brindan soporte y movimiento a los filamentos. Para cumplir con su función respiratoria, las branquias presentan estructuras especializadas con forma de filamentos, cuya función principal es la de aumentar la superficie de área relativa, aumentando el intercambio gaseoso. Los filamentos o lamelas primarias, se encuentran conformados por un núcleo de cartílago hialino que les brinda soporte. Adheridas a las lamelas primarias, se encuentran las lamelas secundarias, estructuras digitiformes, cubiertas por epitelio plano simple. Entremezcladas con las células planas, se pueden observar diversas poblaciones celulares, como es el caso de las células pilares, las cuales regulan el flujo sanguíneo de los canales pilares (**Figura 13**). De acuerdo con Ferguson, (2006), estas células son macrófagos que forman parte del sistema retículo endotelial, las cuales se encuentran encargadas de fagocitar partículas extrañas, especialmente bacterias, constituyendo la primera línea de defensa de las branquias (Ferguson, 2006). A su vez en la base de las lamelas secundarias, se encuentran células secretoras de mucina, llamadas células calciformes, las cuales forman una película de protección mecánica para el epitelio, además participan en la regulación iónica y protección inmunológica, actuando como barrera contra agentes patógenos y sustancias tóxicas. Además de las células calciformes, se pueden observar en la base de la lamela, células osmorreguladoras de cloro. Las cuales secretan NaCl a través de un gradiente electroquímico producido por la acción de una ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , y participan en el balance ácido base (Torres R, González P, & Peña S, 2010).



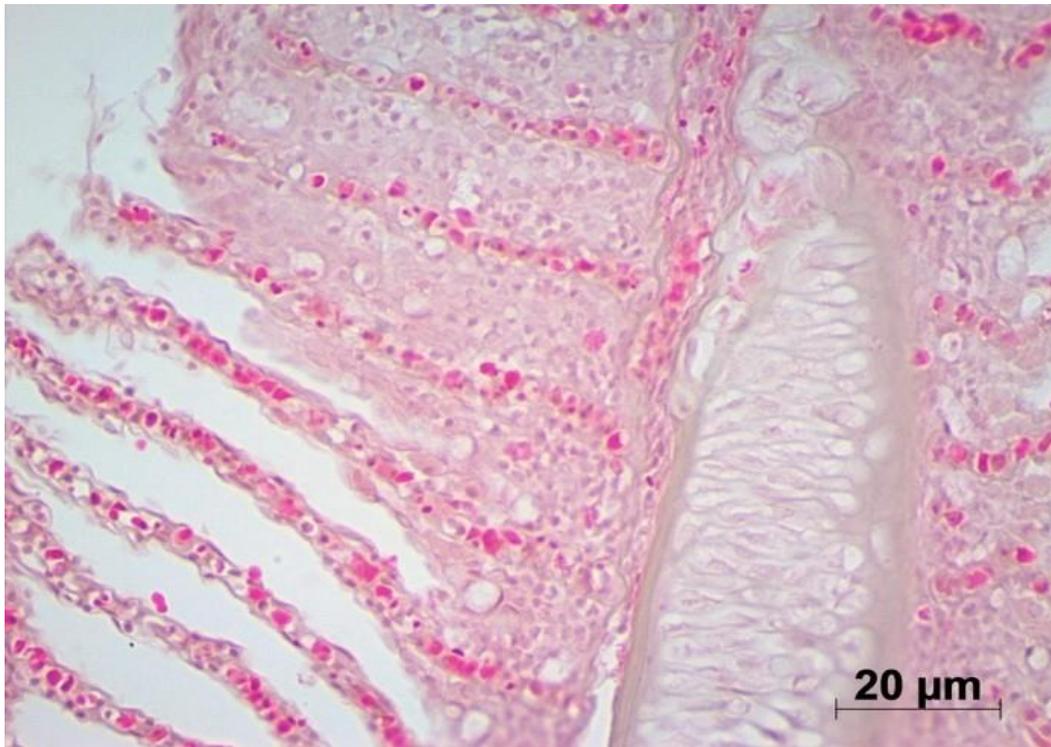
**Figura 13.** Aspecto tisular de la branquia de *S. cavalla*, se observan lamela primaria (1), secundaria (2), fibras musculares (3) y cartílago hialino (4) Tinción H-E.

### 9.2.6 Análisis histopatológico de la branquia

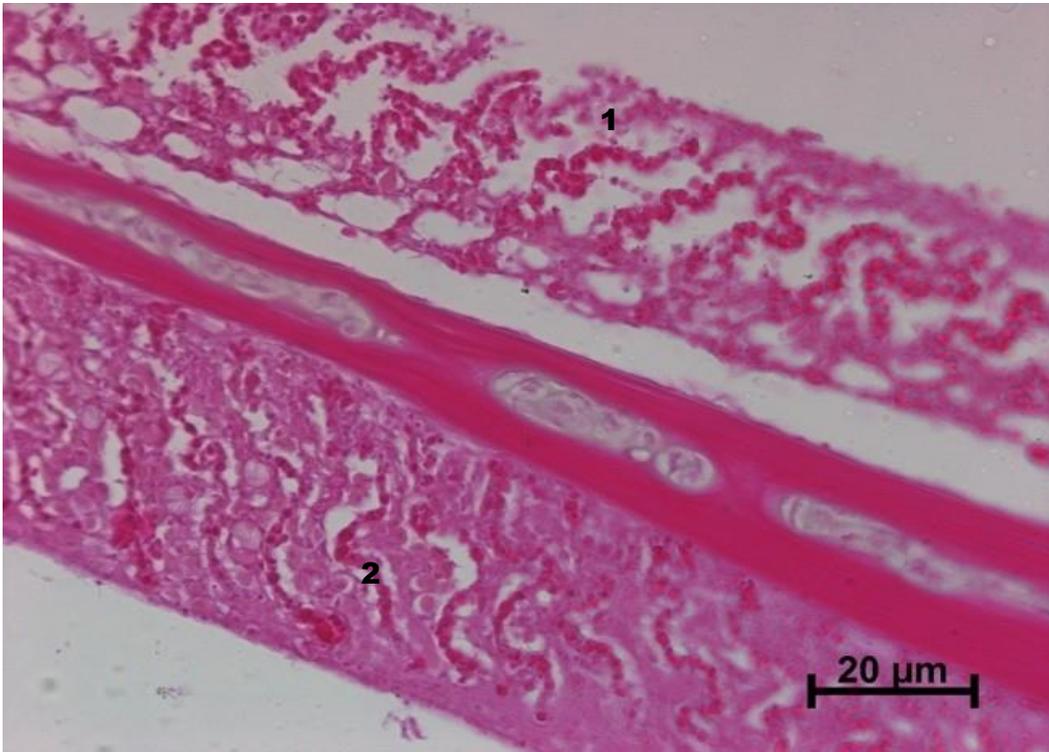
En relación a las alteraciones tisulares observadas en la branquia, en orden de relevancia patológica, más del 50% de los organismos analizados presentaron alteraciones asociadas a disturbios circulatorios, dentro de los que se reportaron; edema lamelar, congestión y telangiectasis. A su vez dentro de las alteraciones asociadas a cambios regresivos, se observaron hiperplasia focal y fusión lamelar. Adicionalmente se observó la presencia de parásitos en el 10% de los organismos analizados (**Figuras 14-17**).



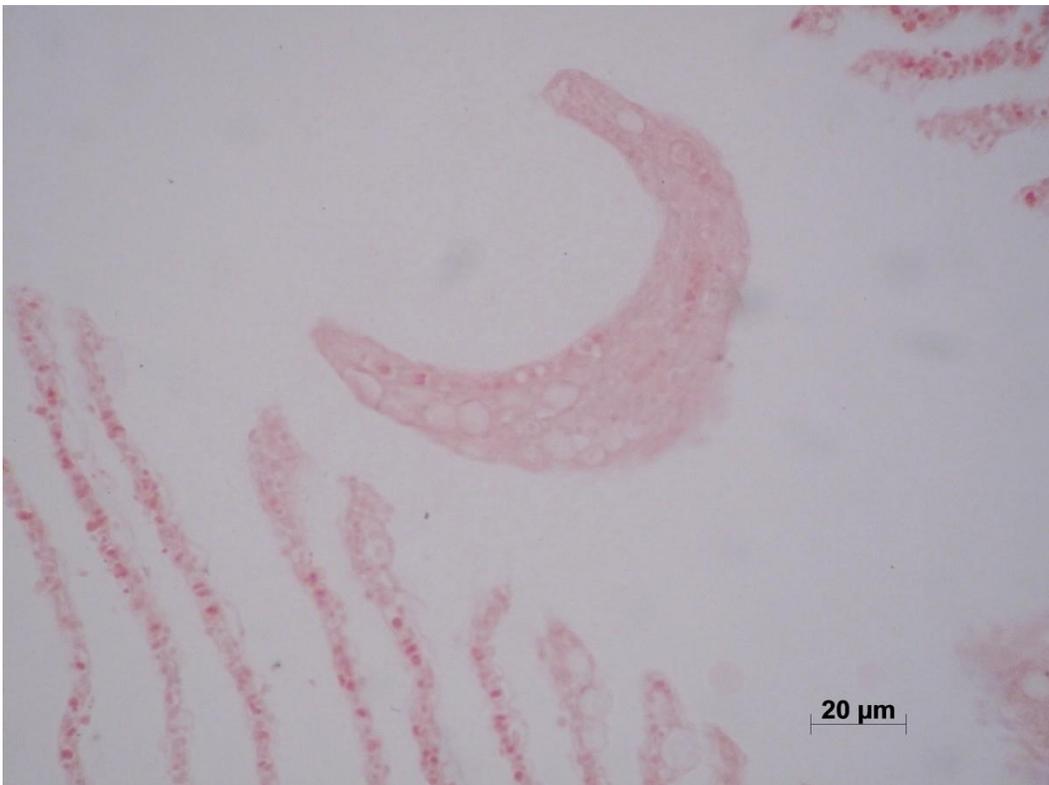
**Figura 14.** Alteraciones presentes en la branquia de *S. cavalla*, se observa hiperplasia focal en lamelas secundarias (1) y edema lamelar (2). Tinción H-E.



**Figura 15.** Alteraciones presentes en la branquia de *S. cavalla*, se observa fusión lamelar focal en lamelas secundarias (1). Tinción H-E.



**Figura 16.** Alteraciones presentes en la branquia de *S. cavalla*, se observa hiperplasia focal (1) y fusión lamelar (2).Tinción H-E.



**Figura 17.** Presencia de parásitos presentes en la branquia de *S. cavalla*. Tinción H-E.

### 9.3 Matriz de alteraciones asociadas a órganos blanco

Se evaluaron de manera semi-cuantitativa 63 laminillas; 21 de hígado, 21 de músculo y 21 de branquia. A partir de la categorización de las alteraciones en las cinco reacciones patrón (**RP**) descritas por Bernet *et al.*, (1999), se asociaron la relevancia o factor de importancia patológica de las lesiones (**FI**) y el grado de diseminación de cada alteración en el tejido (**IR**). Dentro de las alteraciones observadas en el hígado es importante mencionar que el 70% de los organismos analizados presentaron alteraciones relacionadas con la reacción patrón disturbios circulatorios; como secreciones eosinófilas y vasos congestivos, lesiones de tipo reversible que presentan una relevancia patológica de mínima a moderada (FI= 1 y 2). A su vez el 50% presentó RP asociadas a cambios regresivos (atrofia de hepatocitos y hepatocitos vacuolados), dentro de las cuales se presentaron lesiones de tipo irreversible, con una relevancia de moderada a severa importancia patológica (FI= 2 y 3). Cabe destacar que dentro de la RP cambios progresivos, se observó la presencia de centros melanomacrófagos en el 70% de los organismos analizados (FI= 3). Finalmente, respecto a la RP inflamación, se registró que el 40% de los organismos presentaron infiltración en el parénquima hepático (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Relevancia patológica (FI) de las alteraciones observadas en el hígado de *S. cavalla*.

	Organismos analizados						
	1	2	3	4	5	6	7
<b>Reacciones Patrón en Hígado</b>	1	2	3	4	5	6	7
<b>Disturbios circulatorios</b>							
Congestión	1	1	1	1	1	1	1
Hemorragia	0	0	0	0	0	0	0
Secreciones eosinófilas	1	1	1	1	1	1	1
<b>Cambios regresivos</b>							
Atrofia de hepatocitos	2	0	0	2	2	2	2
Hepatocitos vacuolados	3	3	0	0	0	3	3
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0
<b>Cambios progresivos</b>							
Hipertrofia de hepatocitos	0	0	0	0	0	0	0
Hiperplasia	0	0	0	0	0	0	0
Centros melanomacrófagos	3	3	3	3	3	3	3
<b>Inflamación</b>	2	2	0	2	2	0	0
Infiltración	0	2	2	0	2	0	0
<b>Tumores benignos/malignos</b>	0	0	0	0	0	0	0

En relación al músculo, se consideraron 16 alteraciones para la construcción de la matriz histopatológica, dentro de las cuales sólo el 40% de organismos analizados presentó alteraciones relacionadas con disturbios circulatorios (congestión e infiltración), lesiones de tipo reversible, con una relevancia de mínima a moderada importancia patológica (FI= 1 y 2) (**Tabla 2**).

**Tabla 2.** Relevancia patológica (FI) de las alteraciones observadas en el músculo de *S. cavalla*.

Reacciones Patrón en Músculo	Organismos analizados						
	1	2	3	4	5	6	7
<b>Disturbios circulatorios</b>							
Hemorragia	0	0	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0	0	0
Congestión	0	1	1	0	0	1	0
<b>Cambios regresivos</b>							
Alteraciones en núcleo	0	0	0	0	0	0	0
Atrofia	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0
<b>Cambios progresivos</b>							
Hipertrofia de hepatocitos	0	0	0	0	0	0	0
Hiperplasia	0	0	0	0	0	0	0
<b>Inflamación</b>							
Infiltración	0	2	2	0	0	2	0
<b>Tumores benignos/malignos</b>	0	0	0	0	0	0	0

Asimismo para la construcción de la matriz histopatológica, se consideraron 16 alteraciones principales reportadas en estudios previos en la branquia. De las cuales, más del 50% de los organismos analizados presentó alteraciones relacionadas con cambios progresivos (hiperplasia y fusión lamelar focal), alteraciones que presentan una relevancia patológica de moderada a severa (F= 2 y 3), así como alteraciones relacionadas con disturbios circulatorios (edema lamelar, congestión y telangiectasis), presentando una relevancia patológica de mínima a moderada (F= 1 y 2) (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Relevancia patológica (**FI**) de las alteraciones observadas en la branquia de *S. cavalla*.

	Organismos analizados						
	1	2	3	4	5	6	7
<b>Reacciones Patrón en Branquia</b>							
<b>Disturbios circulatorios</b>							
Edema	0	1	0	0	0	0	0
Congestión	0	1	0	1	1	0	0
Telangiectasis	2	2	2	0	2	2	2
<b>Cambios regresivos</b>							
Atrofia	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0
Ruptura células pilares	1	0	0	0	0	0	0
<b>Cambios progresivos</b>							
Synechia	1	0	0	0	0	0	0
Hiperplasia	2	2	2	2	2	2	2
Fusión lamelar	0	0	0	3	3	3	0
<b>Inflamación</b>							
Infiltración	0	0	0	0	0	0	0
<b>Tumores benignos/malignos</b>	0	0	0	0	0	0	0

## 9.4 Índices Histopatológicos

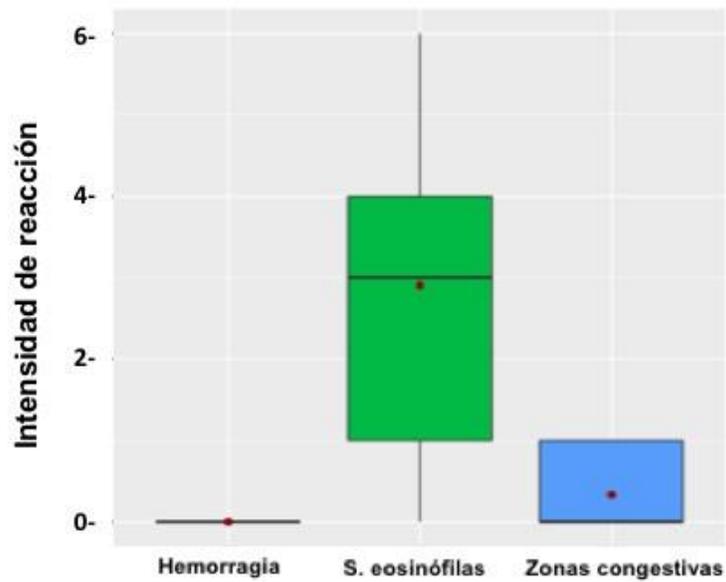
### 9.4.1 Estimación de los índices de reacción asociados al hígado ( $I_{rp}$ )

En relación a la estimación de los índices histopatológicos, se consideraron trece alteraciones para el hígado. De acuerdo a los índices de reacción calculados para cada **RP** evaluada en el hígado de *S. cavalla* (disturbios circulatorios, cambios regresivos, cambios progresivos, inflamación y tumor), los índices promedio más altos se registraron en las reacciones patrón de cambios progresivos ( $I_{rp}= 7$ ), dentro de los cuales el organismo número 7 fue el más dañado, presentando valores de  $I_{rp} = 18$ . Asimismo la reacción patrón de disturbios circulatorios presentó valores promedio de  $I_{rp} = 3.24$  (**Tabla 4**), siendo el organismo número 5 ( $I_{rp}= 6$ ), el que exhibió mayor número de alteraciones relacionadas con la sangre (**Figura 5**).

**Tabla 4.** Índices histopatológicos promedio estimados en el hígado de *S. cavalla*.

<b>Índices histopatológicos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>DS</b>
<i>I<sub>rp</sub></i> disturbios circulatorios	3.24	0	6	±2.07
<i>I<sub>rp</sub></i> cambios regresivos	1.48	0	9	±2.46
<i>I<sub>rp</sub></i> cambios progresivos	7.00	0	18	±5.05
<i>I<sub>rp</sub></i> inflamación	1.24	0	10	±2.79
<i>I<sub>rp</sub></i> tumor	0.00	0	0	±0.00
<i>I<sub>org</sub></i> hígado	12.95	4	24	±5.67

*I<sub>rp</sub>*= índice de intensidad de reacción, *I<sub>org</sub>*= índice de órgano. Comparando el *I<sub>org</sub>* en hígado con valores de referencia de <10 para aguas poco contaminadas y de >30 para aguas contaminadas (van Dyk *et al.*, 2012).



**Figura 18.** Índice de reacción de disturbios circulatorios en hígado de *S. cavalla*.

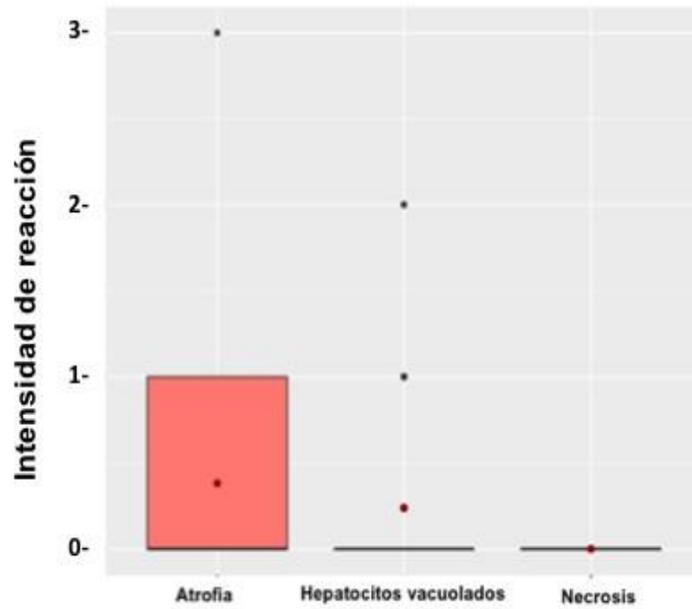


Figura 19. Índice de reacción de cambios regresivos en hígado de *S. cavalla*

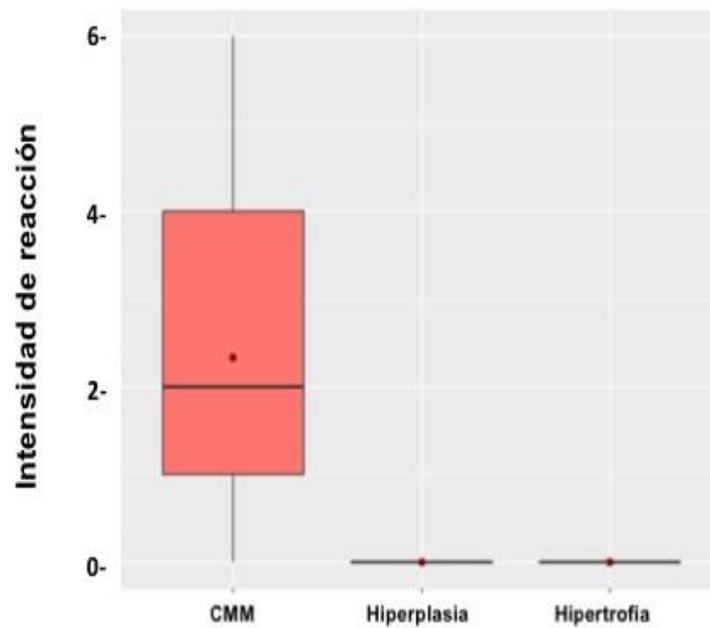


Figura 20. Índice de reacción de cambios progresivos en hígado de *S. cavalla*

#### 9.4.2 Estimación del grado de lesión en el hígado de *S. cavalla* ( $I_{org}$ )

El índice de órgano promedio estimado para los organismos analizados de *S. cavalla* fue de  $I_{org} = 12.95$  (Tabla 4), registrándose el mayor grado de lesión en el organismo número 7 ( $I_{org} = 24$ ) (Figura 9), el cual concuerda con los valores altos estimados para el índice de reacción de la RP cambios progresivos, en el que se presentaron de manera frecuente alteraciones de severa importancia patológica ( $FI=3$ ), como es el caso de los centros melanomacrófagos.

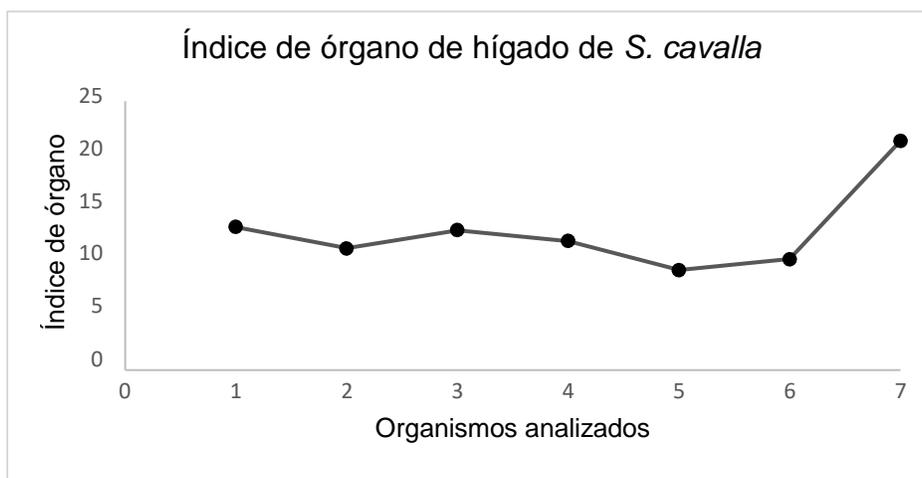


Figura 21. Índice de lesión estimado en hígado de *Scomberomorus cavalla*.

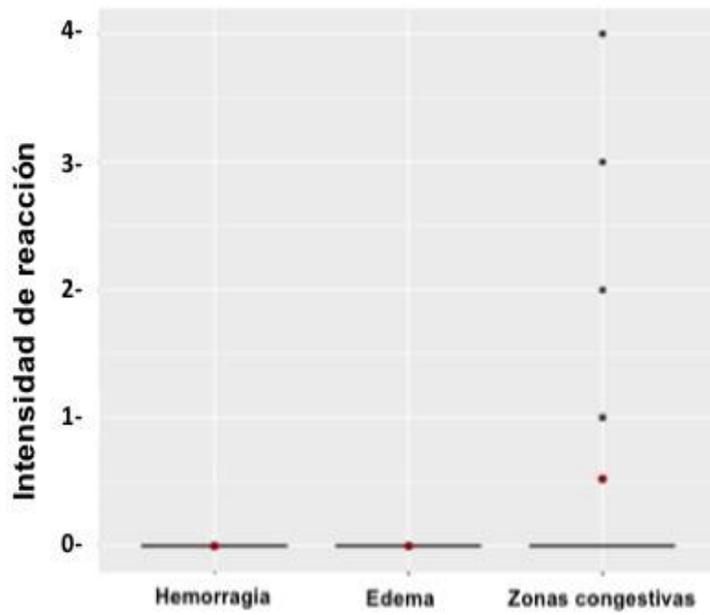
### 9.4.3 Estimación de los índices de reacción asociados al músculo ( $I_{rp}$ )

Se consideraron 16 alteraciones para la estimación de los índices histopatológicos en el músculo de *S. cavalla*. De acuerdo a los índices de reacción calculados para cada **RP** evaluada en el músculo (disturbios circulatorios, cambios regresivos, cambios progresivos, inflamación y tumor), solo se presentaron valores mínimos promedio en las **RP** de disturbios circulatorios ( $I_{rp} = 0.5$ ), dentro de los cuales se asocian alteraciones como edema intracelular y zonas congestivas. Así como en la **RP** Inflamación ( $I_{rp} = 1.29$ ) (Tabla 3), dentro de la cual se consideró infiltración, por lo cual se observó menor grado de lesión en éste órgano (**Figuras 10 y 11**).

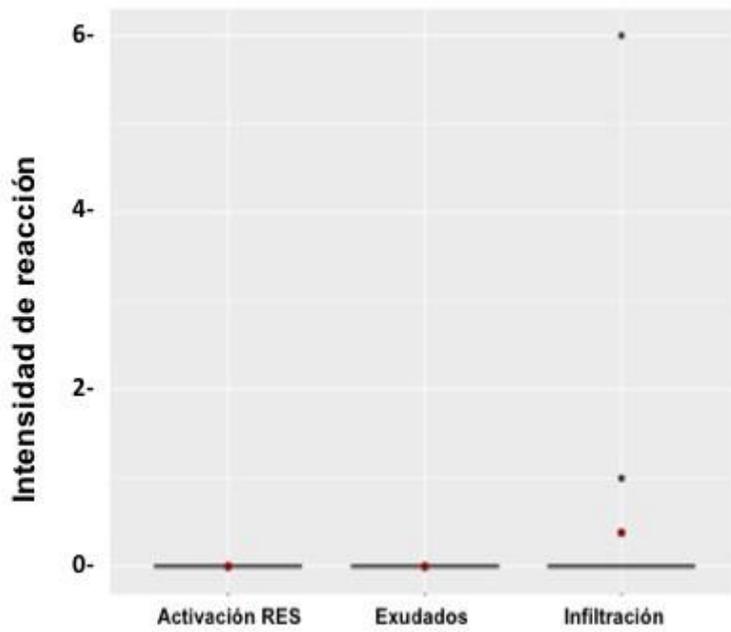
**Tabla 5.** Índices histopatológicos promedio estimados en el músculo de *S. cavalla*.

<b>Índices histopatológicos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>DS</b>
$I_{rp}$ disturbios circulatorios	0.5	0	4	$\pm 1.10$
$I_{rp}$ cambios regresivos				
$I_{rp}$ cambios progresivos				
$I_{rp}$ inflamación	0.73	0	12	$\pm 2.59$
$I_{rp}$ tumor				
$I_{org}$ músculo	1.29	0	12	$\pm 2.79$

$I_{rp}$ = índice de intensidad de reacción,  $I_{org}$ = índice de lesión.



**Figura 22.** Índice de reacción de disturbios circulatorios en músculo de *S. cavalla*.



**Figura 23.** Índice de reacción de inflamación en músculo de *S. cavalla*.

#### 9.4.4 Estimación del grado de lesión en el músculo de *S. cavalla* ( $I_{org}$ )

De acuerdo a los valores promedio ( $I_{org}=1.29$ ) que se estimaron para el músculo, los organismos en los cuales si se observó respuesta fueron el 2 ( $I_{org} = 4.7$ ), el 3 ( $I_{org} = 2$ ) y el 6 ( $I_{org} = 2.3$ ) (**Figura 12**), por lo cual a diferencia de los valores promedio obtenidos para el hígado, éste órgano no presentó el mismo grado de afectación.

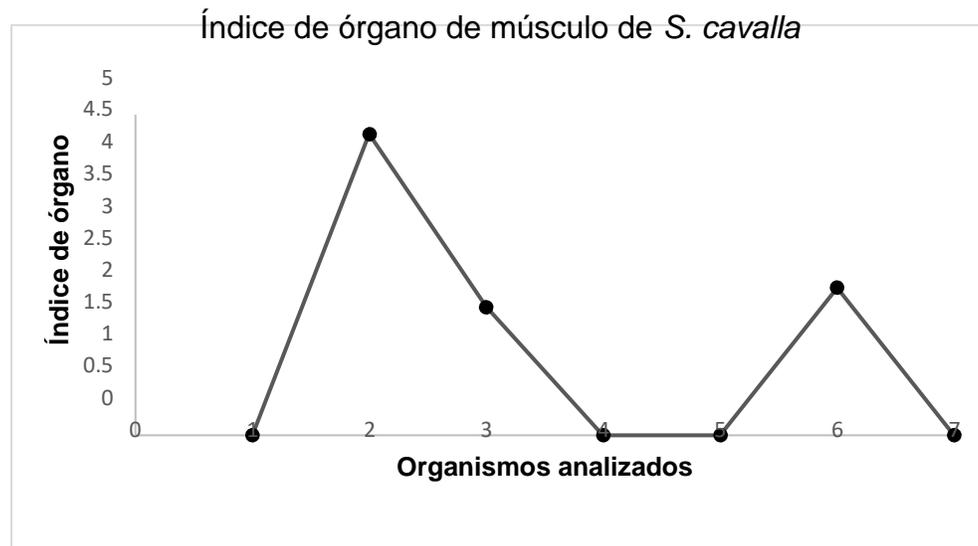


Figura 24. Índice de lesión estimado en músculo de *Scorpaenopsis cavalla*.

#### 9.4.5 Estimación de los índices de reacción asociados a la branquia (I<sub>rp</sub>)

En relación a los índices histopatológicos estimados para la branquia, se consideraron 16 alteraciones. De acuerdo a los índices de reacción calculados para cada **RP** evaluada en *S. cavalla* (disturbios circulatorios, cambios regresivos, cambios progresivos, inflamación y tumor), los índices promedio más altos se observaron en la **RP** cambios progresivos (I<sub>rp</sub>= 10.1), dentro de los cuales el organismo número 8 fue el más dañado, presentando valores de I<sub>rp</sub> = 15 (Tabla 4).

**Tabla 6.** Índices histopatológicos promedio estimados en la branquia de *S. cavalla*.

<b>Índices histopatológicos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>DS</b>
<i>I<sub>rp</sub></i> disturbios circulatorios	2.5	0	9	±2.5
<i>I<sub>rp</sub></i> cambios regresivos	0.2	0	2	±0.61
<i>I<sub>rp</sub></i> cambios progresivos	10.09	4	16	±3.75
<i>I<sub>rp</sub></i> inflamación	0.73	0	12	±2.59
<i>I<sub>rp</sub></i> tumor	0	0	0	0
<i>I<sub>org</sub></i> branquia	13	5	21	±4.31

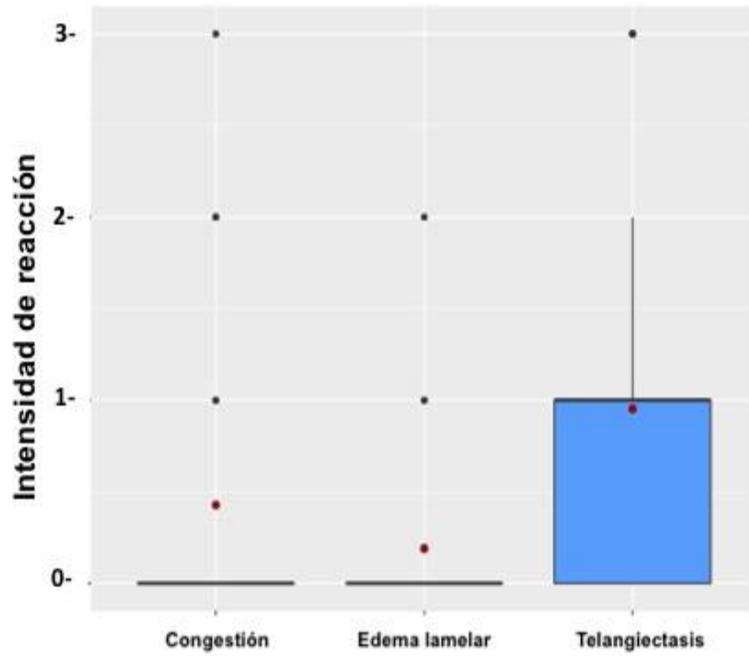


Figura 25. Índice de reacción de disturbios circulatorios en branquia de *S. cavalla*.

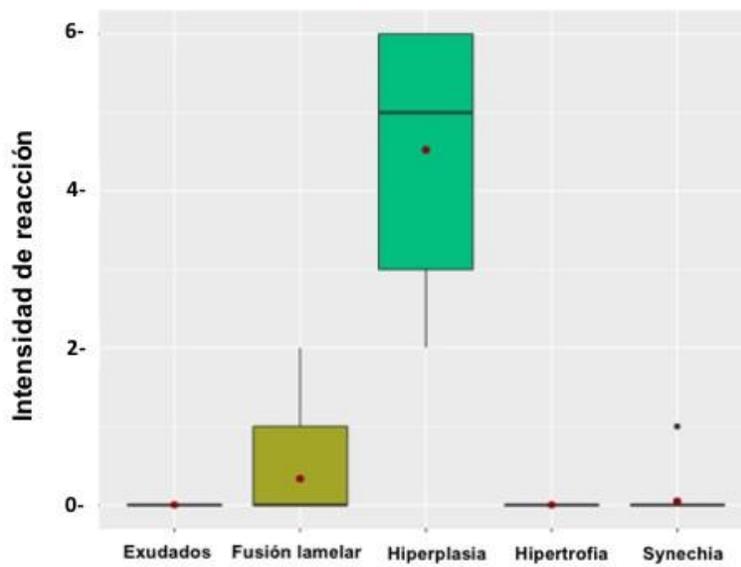
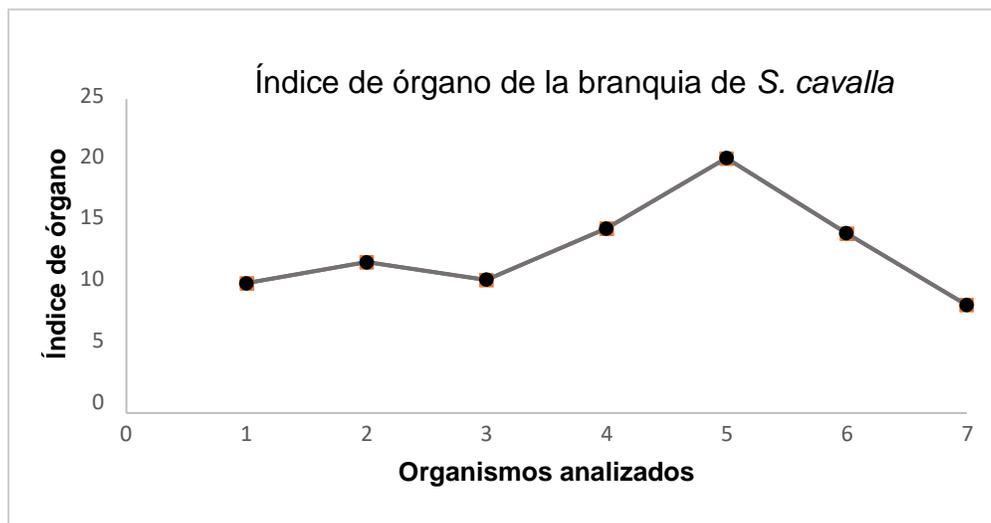


Figura 26. Índice de reacción de cambios progresivos en branquia de *S. cavalla*.

#### 9.4.6 Estimación del grado de lesión en branquia de *S. cavalla* ( $I_{org}$ )

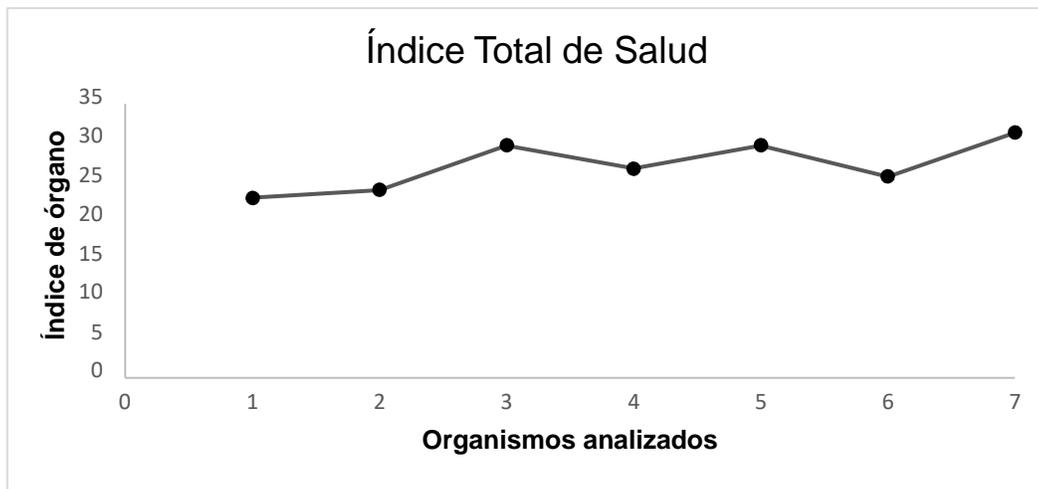
El índice de órgano promedio estimado para la branquia de *S. cavalla* fue de  $I_{org}=13$  (**Tabla 4**), registrándose el mayor grado de lesión en los organismos 4, 8 y 9 ( $I_{org}=15$  y 20, respectivamente) (**Figura 13**), lo cual es atribuible a la presencia de alteraciones progresivas, como es el caso de hiperplasia focal y fusión lamelar, las cuales presentan de moderada a severa importancia patológica ( $FI=2$  y 3).



**Figura 27.** Índice de lesión estimado en la branquia de *Scomberomorus cavalla*.

#### 9.4.7 Estimación del índice total de salud

En relación a la estimación del índice total de salud, los valores promedio obtenidos dentro de éste, presentaron un rango de 21-30 (**Figura 14**). Encontrándose moderadas alteraciones tanto morfológicas, como estructurales, caracterizadas por la presencia de hepatocitos vacuolados, así como de hiperplasia focal en branquias.



**Figura 28.** Índice total de salud estimado para *Scomberomorus cavalla*.

#### 9.4.8 Estimación del índice total de reacción

Con base a las 5 categorías de referencia evaluadas (disturbios circulatorios, cambios regresivos, cambios progresivos, inflamación y tumor) en el hígado, músculo y branquia de *S. cavalla*, se observó que la reacción patrón cambios progresivos presentó el índice total de reacción promedio más alto en todos los organismos analizados (**Tabla 5**), destacando dentro de esta categoría, alteraciones de tipo crónico con una relevancia patológica de moderada a severa.

**Tabla 7.** Índices totales de reacción estimados para *Scomberomorus cavalla*.

<b>Índices histopatológicos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Max</b>	<b>Min</b>	<b>DS</b>
<i>I<sub>rp</sub></i> disturbios circulatorios	6.28	13	1	±3.82
<i>I<sub>rp</sub></i> cambios regresivos	1.76	9	0	±2.62
<i>I<sub>rp</sub></i> cambios progresivos	17.10	25	4	±5.45
<i>I<sub>rp</sub></i> inflamación	2	18	0	±4.56
<i>I<sub>rp</sub></i> tumor	0	0	0	0

De acuerdo a los índices histopatológicos estimados en el hígado, músculo y branquia de *Scomberomorus cavalla*, se observó que los órganos que presentaron un índice de lesión más alto fueron la branquia y el hígado. La branquia presentó un índice promedio de  $I_{org} = 13$ , registrando un rango de variación entre individuos del 5 al 21, mientras que en el hígado, el índice promedio fue de  $I_{org} = 12.95$ , con una variación del 4 al 24. Los valores obtenidos a partir de los índices de órgano corresponden a organismos con tejido y estructura normal, así como presencia de moderadas alteraciones histopatológicas (Clase 2) para el hígado y la branquia. El músculo presentó estructura y tejido normal, con alteraciones mínimas (Clase 1).

## 10. Discusión

La exposición de los peces a diversos contaminantes se encuentra frecuentemente asociada a un gran número de alteraciones en diferentes órganos blanco. En diversos estudios se han utilizado las alteraciones en peces como biomarcadores confiables de la presencia de varios contaminantes, las cuales se han reportado tanto a nivel del citoplasma así como del núcleo (van Dyk, Marchand, Smit, & Pieterse, 2009). Por lo cual, la caracterización histopatológica de órganos específicos puede representar la condición, así como integrar en diferentes escalas de tiempo, los impactos endógenos y exógenos provenientes de alteraciones en niveles intermedios de la organización biológica (van Dyk et al., 2009).

Entre los órganos a considerar para las evaluaciones histopatológicas se encuentran el hígado, músculo, branquias, entre otros. En los peces teleósteos, el hígado presenta un papel clave en el metabolismo y excreción de los xenobióticos, digestión y almacenamiento de nutrientes, así como en el metabolismo de hormonas sexuales. El músculo, dado que presenta una relación directa con la calidad del consumo, es de gran interés. Los paquetes musculares se encuentran en directo y permanente contacto con el medio en cual se desarrollan. Las branquias, representan órganos sensibles y multifuncionales, responsables de la respiración, osmorregulación, equilibrio ácido-base y excreción del nitrógeno (Liebel, Tomotake, & Ribeiro, 2013; Reddy & Rawat S S, 2013).

En relación al análisis histopatológico en el hígado, dentro de las lesiones reportadas en el presente trabajo, destacan la degeneración vacuolar de los hepatocitos, inflamación, así como los centros melanomacrófagos. Los hepatocitos

vacuolados, se caracterizan por un aspecto reticulado, así como por gránulos en el citoplasma. Registrándose seguidos de lesiones celulares, lo cual conduce a hinchazón y por consiguiente a la alteración de la entrada de ATP y de la permeabilidad en la membrana plasmática. Estos resultados concuerdan con los observados en otras especies de peces en los cuales reportan degeneración vacuolar hepática multifocal y difusa como una respuesta no específica al estrés descrita para un amplio espectro de contaminantes (Lukin, Sharova, Belicheva, & Camus, 2011). La presencia de alteraciones de moderada ocurrencia, como las observadas en el presente estudio, pueden reflejar condiciones normales en el hígado y si la exposición al contaminante cede, podrían ser reversibles, no obstante deben ser reportadas (van Dyk, Cochrane, & Wagenaar, 2012).

Otra de las alteraciones no-específicas descritas en el presente trabajo son los centros melanomacrófagos (CMM), los cuales se observaron en el 80% de los organismos analizados. Los CMM son un conjunto o agregado de diversas células que presentan diferentes pigmentos, dentro de los cuales se encuentra la melanina, hemosiderina y lipofuscina. En los peces se encuentran normalmente localizados en el estroma de tejidos hematopoyéticos como es el caso del bazo y riñón, siendo también reportados frecuentemente en hígado. Dentro de las principales funciones de los CMM, se describen como depósitos focales de bacterias intracelulares causantes de infecciones crónicas; secuestro de antígenos y radicales libres, así como de algunos metales como el hierro (Agius & Roberts, 2003). De acuerdo a Fournie y colaboradores, la proliferación y acúmulo de estas estructuras se debe a diversos factores, dentro de los que destacan: crecimiento, estado nutricional y enfermedades infecciosas, por lo cual, estudios recientes se han enfocado en

evaluar cambios en el tamaño, número, así como prevalencia de los CMM como indicadores de la contaminación acuática (Fournie et al., 2011).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, concuerdan con los observados por van Dyk y colaboradores (2012), en los cuales reportaron la presencia de CMM en más del 50% de los organismos analizados, incluyendo sitios de referencia así como áreas contaminadas, por lo cual, la variación en el tamaño o número de CMM no fue asociado a peces de aguas contaminadas, sino más bien como una característica histológica relacionada a procesos fisiológicos en el hígado. Por tal motivo, estas alteraciones fueron consideradas dentro del protocolo histopatológico del presente trabajo y se propone sean consideradas como línea base para futuras evaluaciones del estado de salud de la especie *Scomberomorus cavalla*.

Por otro lado, los cambios inflamatorios presentes en el músculo se han clasificado dentro de los grupos de alteraciones que describen la mínima exposición considerada como indicador de contaminantes (Reddy et al., 2013). Debido a que los procesos inflamatorios se describen como los primeros mecanismos de defensa del organismo, su propósito es diluir, aislar y destruir el agente perjudicial para así facilitar los procesos de reparación del tejido (Mumford et al., 2007).

En relación a las alteraciones evaluadas en la branquia, Pereira y colaboradores (2012), mencionan que las alteraciones más frecuentes observadas en éste órgano, se presentan en el tejido epitelial, dentro de las que destacan: edema, ruptura de células pilares, telangiectasia e hiperplasia, las cuales han sido reportadas como resultado de un fenómeno activo y adaptativo del epitelio a la exposición de tóxicos. Estos resultados concuerdan con lo observado en el presente trabajo, en el cual las alteraciones más frecuentes se asociaron con disturbios circulatorios (edema y

telangiectasia), así como cambios progresivos (hiperplasia y fusión lamelar). De acuerdo al factor de importancia, las alteraciones observadas en este tejido, presentaron de mínima a severa importancia patológica, sin embargo sólo se observaron de manera puntual, por lo cual la integridad de éste órgano no se encuentra comprometida. Cabe destacar que dentro del criterio de valoración utilizado para el cálculo del índice de branquia del presente trabajo, se añadieron dentro del protocolo histopatológico, las tres respuestas más frecuentes reportadas después de una exposición (edema lamelar, hiperplasia y fusión lamelar), así como las propuestas por Pereira y colaboradores (2012) (Mitchell & Rodger, 2011; Roberts, 1991).

La adecuada interpretación de los estudios histopatológicos considera dentro de los organismos control, no la ausencia de alteraciones, sino más bien la presencia moderada de alteraciones, así como de mínimos cambios estructurales y reacciones inflamatorias moderadas (Bernet, Schmidt-Posthaus, Wahli, & Burkhardt-Holm, 2004). Con el fin de clasificar semi-cuantitativamente los órganos de peces que presentaban alteraciones de interés patológico de los sanos, Zimmerli *et al.* (2007) desarrollaron una escala de valoración basada en el protocolo histopatológico de Bernet *et al.* (1999). De acuerdo a esta escala de valoración, el diagnóstico de salud de los organismos analizados obtenido a través del índice de órgano, mostró que los resultados del presente estudio se encuentran dentro del rango de tejido normal para los tres órganos estudiados (hígado, músculo y branquia), mismos que presentaron una variación entre individuos de 4 a 24. Clasificándolos entre los rangos de modificaciones de mínimas (11-20) a moderadas (21-30) en la estructura y morfología de los tejidos. Considerando valores de referencia de <10 para aguas

poco contaminadas y de >30 para aguas contaminadas, los rangos determinados para *S. cavalla* (11-30), sugieren que el sistema acuático en el que se desarrollan no presenta niveles altos de contaminación, sin embargo, algunas de las alteraciones reportadas son de relevancia patológica por lo que se recomienda continuar con los programas de monitoreo.

En relación al índice total de salud, actualmente no se cuenta con estudios que presenten una escala de valoración, como la que existe para el índice de órgano. El índice total de salud debe considerar cuando menos la evaluación de tres órganos, este trabajo, representa el primer reporte para nuestro país en el que se considera el índice total. De acuerdo con los valores del índice de salud obtenidos (21-30), los organismos analizados se clasificaron dentro de la Clase 2 (organismos con tejido y estructura normal, moderadas alteraciones histopatológicas), de acuerdo a la propuesta de van Dyk y colaboradores (2009). Se propone, en este trabajo y de acuerdo a las escalas propuestas, considerar este rango en el índice total de salud para organismos sanos (van Dyk et al., 2009).

El empleo de protocolos histopatológicos como biomarcadores del estrés ambiental, ha demostrado ser de gran utilidad en los programas de biomonitoreo de la contaminación acuática. Debido a su posición intermedia en los niveles de organización biológica, la histopatología representa una advertencia temprana y de bajo costo, que permite a través de la estandarización de los criterios de evaluación, establecer índices de salud que pueden ser utilizados como valores de referencia para los manejadores de recursos.

## 11. Conclusiones

- La estandarización de las respuestas tisulares en categorías de referencia patológica permitió a través de los índices de lesión, evaluar semi-cuantitativamente los órganos analizados.
- De acuerdo a los índices de salud de *Scomberomorus cavalla* los organismos analizados de Tecolutla, Veracruz no representan un riesgo para su consumo.
- Los índices de lesión estimados en el presente trabajo se encuentran por debajo de >30, correspondientes a la clasificación de aguas poco contaminadas.
- De acuerdo al análisis histopatológico en hígado y branquia, las alteraciones observadas son indicadoras de exposición a contaminantes, por lo cual es relevante considerar estos órganos dentro de los protocolos de evaluación de la contaminación acuática.
- Los protocolos histopatológicos son herramientas rápidas y de bajo costo que permiten establecer a través de índices de lesión, valores de referencia que puedan ser utilizados como indicadores de la contaminación acuática.

**Perspectivas:**

Se sugiere continuar con el ordenamiento y sistematización de datos ecotoxicológicos en bases de datos que puedan ser utilizadas para el análisis y evaluación del estado de salud de los recursos de nuestro país. Siendo una herramienta de gran utilidad en los programas de monitoreo de la contaminación acuática.

## 12. Bibliografía

- Adams, S. M., & Greeley, M. S. (2000). Ecotoxicological Indicators of Water Quality: Using Multi-response Indicators to Assess the Health of Aquatic Ecosystems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 123(1/4), 103–115.  
<https://doi.org/10.1023/A:1005217622959>
- Agius, C., & Roberts, R. J. (2003). Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*, 26(9), 499–509.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x>
- Bernet, D., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., & Burkhardt-Holm, P. (2004). Evaluation of Two Monitoring Approaches to Assess Effects of Waste Water Disposal on Histological Alterations in Fish. *Hydrobiologia*, 524(1), 53–66.  
<https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000036196.84682.27>
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25–34. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.1999.00134.x>
- Botello, A. V. (2001). *LA CONTAMINACION MARINA Y LA URGENCIA DE SU LEGISLACIÓN*. México, D.F. Retrieved from [http://www.posgrado.unam.mx/publicaciones/ant\\_omnia/23/07.pdf](http://www.posgrado.unam.mx/publicaciones/ant_omnia/23/07.pdf)
- Capó Martí, M. A. (2007). *Principios de ecotoxicología : [diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente]*. Tébar.
- Di Giulio, Richard T., Hinton, D. E. (2008). *THE TOXICOLOGY OF FISHES*. (D. E. Di Giulio, Richard T., Hinton, Ed.). CRC Press.

- Donatti, L., Sant, F., Rios, A., Machado, C., Rosa, M., Pedreiro, D., ... Oliveira, M. F. De. (2014). Histopathological Alterations on Antarctic, 139–143.
- Ferguson, H. W. (2006). *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease*. London: London, Scotian Press.
- Förstner, U., & Wittmann, G. T. W. (1981). Introduction. In *Metal Pollution in the Aquatic Environment* (pp. 1–2). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-69385-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-69385-4_1)
- Fournie, J. W., Summers, J. K., Courtney, L. A., Engle, V. D., Blazer, V. S., W, J., ... S, V. (2011). Access details : Access Details : [ subscription number 932794398 ] Journal of Aquatic Animal Health Utility of Splenic Macrophage Aggregates as an Indicator of Fish Exposure to Degraded Environments Utility of Splenic Macrophage Aggregates as an Indicato. *Aquatic Animal Health*, 13:2(932794398), 105–116. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(2001\)0132.0.CO](https://doi.org/10.1577/1548-8667(2001)0132.0.CO)
- Gray, J. S. (2002). Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Marine Pollution Bulletin*, 45(1), 46–52.
- Guzmán García, X. (2007). *Empleo de biomarcadores para evaluar el proceso de daño en ostión Crassostrea virginica y su respuesta ambiental*. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Jeronimo Juarez, J. R. (2013). “ *Biomarcadores de salud y calidad aplicados a la almeja Polymesoda caroliniana ( Bosc , 1801 ) ( Bivalva : Corbiculidae ) de Tecolutla , Veracruz* ” . Universidad Autónoma Metropolitana.
- Liebel, S., Tomotake, M. E. M., & Ribeiro, C. A. O. (2013). Fish histopathology as

- biomarker to evaluate water quality. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 8(2), 9–15. Retrieved from <http://siaiap32.univali.br/seer/index.php/eec/article/view/3716>
- Lukin, A., Sharova, J., Belicheva, L., & Camus, L. (2011). Assessment of fish health status in the Pechora River: Effects of contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(3), 355–365. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.10.022>
- Marchand, M. J., Dyk, J. C. van, Pieterse, G. M., Barnhoorn, I. E. J., & Bornman, M. S. (2009). Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa. *Environmental Toxicology*, 24(2), 133–147. <https://doi.org/10.1002/tox.20397>
- Mitchell, S. O., & Rodger, H. D. (2011). A review of infectious gill disease in marine salmonid fish. *Journal of Fish Diseases*, 34(6), 411–432. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01251.x>
- Mumford, S., Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., MacConnell, B., Blazer, V., & Histology John Morrison, N. (2007). *Fish Histology and Histopathology*. Retrieved from [https://nctc.fws.gov/resources/course-resources/fish-histology/Fish\\_Histology\\_Manual\\_v4.pdf](https://nctc.fws.gov/resources/course-resources/fish-histology/Fish_Histology_Manual_v4.pdf)
- Pereira G, E., Vieira Rodrigues, R. V., Bonucci Moreira, C., Romano, L. A., Sampaio, L. A., & Miranda-Filho, K. C. (2012). Growth and histopathological effects of chronic exposition of marine pejerrey *odontesthes argentinensis* larvae to petroleum water-soluble fraction (WSF). *Ambio*, 41(5), 456–466. <https://doi.org/10.1007/s13280-012-0259-4>
- Ploetz, D. M., Fitts, B. E., & Rice, T. M. (2007). Differential Accumulation of Heavy

Metals in Muscle and Liver of a Marine Fish, (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78(2), 134–137.

<https://doi.org/10.1007/s00128-007-9028-7>

Ramírez Trejo, V. (2015). *Empleo de biomarcadores para evaluar la exposición ambiental a tóxicos en Scomberomorus cavalla (Cuvier, 1829) de Tecolutla, Veracruz*. Universidad Autónoma Metropolitana.

Reddy, P. B., & Rawat S S. (2013). Assessment of Aquatic Pollution Using Histopathology in Fish as a Protocol. *International Research Journal of Environment Sciences* \_\_\_\_\_ ISSN Int. Res.

*J. Environment Sci*, 2(8), 2319–1414. Retrieved from

[https://www.researchgate.net/profile/P\\_Reddy3/publication/258150247\\_Assessment\\_of\\_Aquatic\\_Pollution\\_Using\\_Histopathology\\_in\\_Fish\\_as\\_a\\_Protocol/links/00b4952722c5462e1d000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/P_Reddy3/publication/258150247_Assessment_of_Aquatic_Pollution_Using_Histopathology_in_Fish_as_a_Protocol/links/00b4952722c5462e1d000000.pdf)

Roberts, R. J. (1991). Fish pathology. *Fisheries Research*, 10(3–4), 351–353.

[https://doi.org/10.1016/0165-7836\(91\)90085-T](https://doi.org/10.1016/0165-7836(91)90085-T)

Torres R, G. a, González P, S., & Peña S, E. (2010). Descripción Anatómica, Histológica y Ultraestructural de la Branquia e Hígado de Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Morphology*, 28(3), 703–712.

<https://doi.org/10.4067/S0717-95022010000300008>

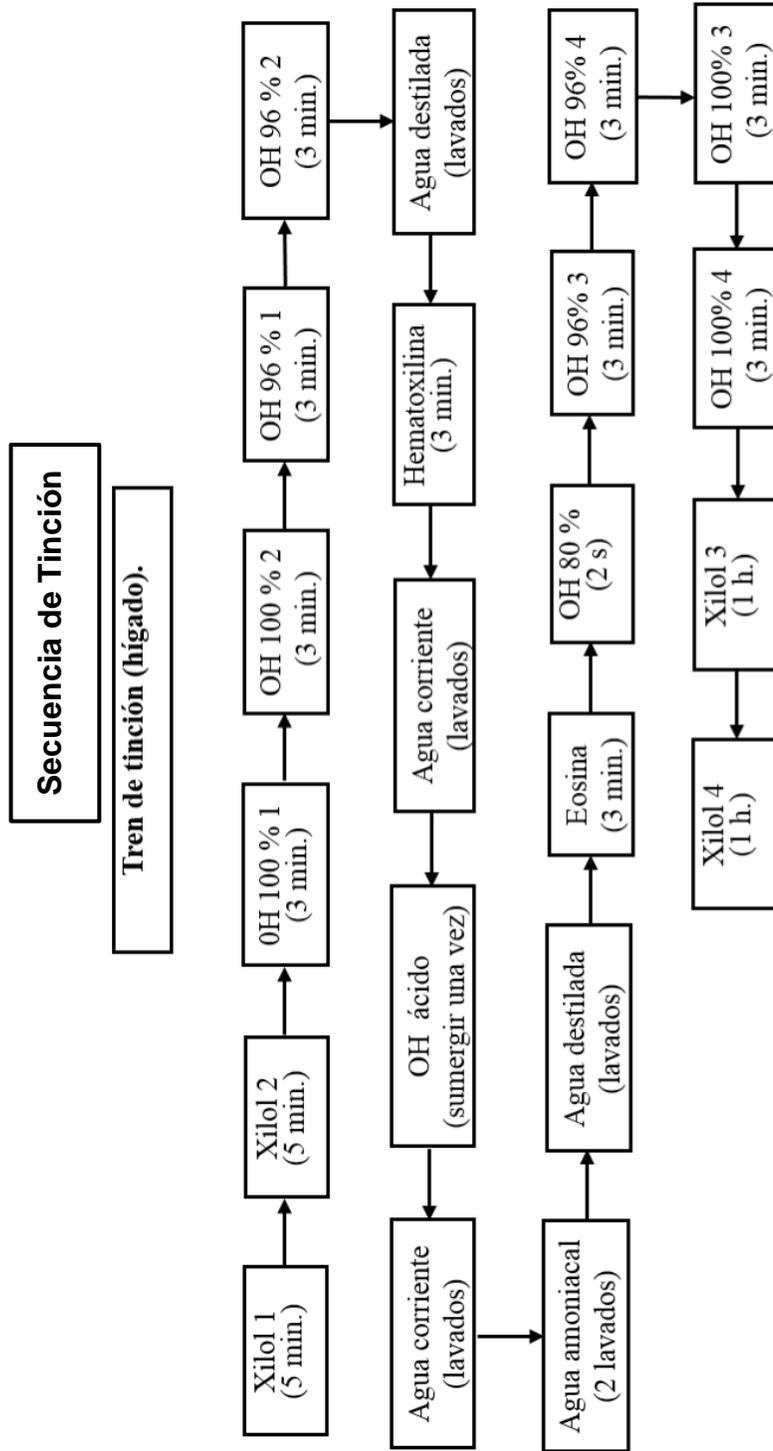
van Dyk, J. C., Cochrane, M. J., & Wagenaar, G. M. (2012). Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere*, 87(4), 301–311.

<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2011.12.002>

van Dyk, J. C., Marchand, M. J., Smit, N. J., & Pieterse, G. M. (2009). A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *African Journal of Aquatic Science*, 34(3), 273–282.

<https://doi.org/10.2989/AJAS.2009.34.3.9.985>

### 13. Anexos





HISTOPATOLOGÍA DE  
*Scomberomorus cavalla* COVIER  
1825 (PERCIFORMES:  
SCOMBRIDAE) COMO BIOMARCADOR  
DE LA CONTAMINACIÓN ACUÁTICA.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 13 del mes de diciembre del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. GERARDO FIGUEROA LUCERO  
DRA. MARCELA GALAR MARTINEZ  
DR. JUAN CARLOS SEGOVIANO RAMIREZ  
DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA



ALEJANDRA REYES MARQUEZ  
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA  
DE: ALEJANDRA REYES MARQUEZ.

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

*Aprobado*

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

DR. JOSE ANTONIO DE LOS REYES HEREDIA  
SECRETARIO GENERAL

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE

DR. GERARDO FIGUEROA LUCERO

VOCAL

DRA. MARCELA GALAR MARTINEZ

VOCAL

DR. JUAN CARLOS SEGOVIANO RAMIREZ

SECRETARIA

DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA