UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA



TESIS DOCTORAL

Avances en el conocimiento de la fisiopatología del buceo en tortugas marina: el descubrimiento de la enfermedad descompresiva

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Daniel García Párraga

Directores

José Manuel Sánchez Vizcaíno
Antonio Jesús Fernández Rodríguez

Madrid

© Daniel García Párraga, 2021

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA



TESIS DOCTORAL

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA FISIOPATOLOGÍA DEL BUCEO EN TORTUGAS MARINAS: EL DESCUBRIMIENTO DE LA ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

DANIEL GARCÍA PÁRRAGA

DIRECTORES

JOSÉ MANUEL SÁNCHEZ VIZCAÍNO
ANTONIO JESÚS FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Sanidad Animal

Centro VISAVET



AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA FISIOPATOLOGÍA DEL BUCEO EN TORTUGAS MARINAS: EL DESCUBRIMIENTO DE LA ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA

MEMORIA DE TESIS DOCTORAL

Daniel García Párraga

DIRIGIDA POR LOS DOCTORES:

Prof. José Manuel Sánchez-Vizcaíno Rodríguez

Prof. Antonio Jesús Fernández Rodríguez

MADRID, 2021

ÍNDICE

DECLARACIÓN ÉTICA 11
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS 13
LISTADO DE ABREVIATURAS 31
AGRADECIMIENTOS 35

I- RESUMEN / ABSTRACT 47

II- INTRODUCCIÓN 53

III- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS 59

IV- ESTADO DEL ARTE 65
A – TORTUGAS MARINAS: GENERALIDADES 65
A.1- TAXONOMÍA 65
A.2- BIOLOGÍA BÁSICA 65
A.3- ADAPTACIONES A LA VIDA MARINA Y EL BUCEO 67
A.4- EVOLUCIÓN 73
A.5- AMENAZAS y CONSERVACIÓN 75
B – TORTUGAS E INTERACCIÓN CON PESCA 76
B.1- IMPACTO DE LAS PESQUERÍAS PARA LA CONSERVACIÓN DE LAS POBLACIONES DE TORTUGAS 76
B.2- TIPOLOGÍA DE LAS INTERACCIONES PESQUERAS 78
B.3- TIPOS DE PESQUERÍAS OBJETO DE ESTUDIO 82
C – LA INMERSIÓN FORZADA 87
C.1- FISIOPATOLOGÍA 87
C.2- CUADRO CLÍNICO LESIONAL 90
C.3- DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO 91
E – LA ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA 94
E.1- DESCRIPCIÓN Y ANTECEDENTES 94
E.2- ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA EN VERTEBRADOS BUCEADORES 96

E.3– EL COLAPSO ALVEOLAR PASIVO COMO PRINCIPAL MECANISMO PROTECTOR FRENTE A LA DCS 97
F – BIBLIOGRAFÍA 102

V- CAPÍTULO 1: EVIDENCIAS PARA EL DESCUBRIMIENTO DE LA ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA EN TORTUGAS MARINAS 115
I – INTRODUCCIÓN 115
II – MATERIALES Y MÉTODOS 116
A – ADQUISICIÓN DE LOS ANIMALES 116
B– DIAGNÓSTICO CLÍNICO 117
C– TRATAMIENTO 120
D– EXAMEN POST MORTEM 122
III – RESULTADOS 123
A– DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO INICIAL 123
B – DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO 129
IV – DISCUSIÓN 133
A–DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES Y FACTORES DE CONFUSIÓN 134
B– ELEMENTOS CLAVE PARA EL DESCUBRIMIENTO DE LA ENFERMEDAD 135
C–MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS 137
D–FACTORES DE RIESGO, IMPACTO POBLACIONAL Y FUTUROS ESTUDIOS DE INTERÉS 138
V – CONCLUSIONES 139
VI – BIBLIOGRAFÍA 141

VI- CAPÍTULO 2: CONSIDERACIONES CLÍNICAS SOBRE LA ENFERMEDAD: AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO 145
I – INTRODUCCIÓN 145
II – MATERIALES Y MÉTODOS 147
A – ADQUISICIÓN DE LOS ANIMALES 147
B – DIAGNÓSTICO CLÍNICO 149
C – TRATAMIENTO 152
D – EXAMEN POST MORTEM 154
III – RESULTADOS Y DISCUSIÓN 156
A – APORTACIONES CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO *IN VIVO* 157
A.1- LA HISTORIA CLÍNICA Y EXAMEN FÍSICO GENERAL 157

A.2- DIAGNÓSTICO POR IMAGEN 166
B – OTRAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS COMPLEMENTARIAS 208
C – APORTACIONES CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO *POST MORTEM* 227
D – APORTACIONES CLÍNICAS AL TRATAMIENTO 243
E – PRONÓSTICO POST-TRATAMIENTO 256
IV – CONCLUSIONES 263
V – BIBLIOGRAFÍA 265

VII- CAPÍTULO 3: ESTUDIO DEL IMPACTO DE LA ENFERMEDAD EN LAS POBLACIONES DE TORTUGAS MARINAS 271
I – INTRODUCCIÓN 271
II – MATERIALES Y MÉTODOS 275
A –EVALUACIÓN DEL IMPACTO GLOBAL DE LA DCS EN PESQUERÍAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA Y ESTABLECIMIENTO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD 275
A.1- RECOGIDA DE DATOS 275
A.2- ANÁLISIS DE DATOS 276
B –EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA DCS EN CONDICIONES DE CAMPO A BORDO DE BUQUES PESQUEROS 278
B.1- CONDICIONES DE CAPTURA 278
B.2- EVALUACIÓN CLÍNICA DE LAS TORTUGAS MARINAS 283
B.3- MARCADO SATELITAL PARA TELEMETRÍA POST LIBERACIÓN 285
B.4- EXÁMENES POST MORTEM 288
B.5- ANÁLISIS DE DATOS 288
C –IMPACTO DE LA DCS EN NUEVAS ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS 289
III – RESULTADOS 290
A –EVALUACIÓN DEL IMPACTO GLOBAL DE LA DCS EN PESQUERÍAS DE LA C. VALENCIANA Y ESTABLECIMIENTO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD 290
A.1- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS 290
A.2- ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON LA DCS Y LA MORTALIDAD 298
B –EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA DCS EN CONDICIONES DE CAMPO A BORDO DE BUQUES PESQUEROS 314
B.1- HALLAZGOS DEL EXAMEN FÍSICO 314
B.2- HALLAZGOS DEL EXAMEN ECOGRÁFICO 317
B.3- HALLAZGOS DEL EXAMEN POST MORTEM 318

B.4- RESULTADOS DEL MARCAJE 319
B.5- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS 321
B.6- ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON LA DCS Y LA MORTALIDAD EN CONDICIONES DE CAMPO 328
C –IMPACTO DE LA DCS EN NUEVAS ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS 334
C.1- TORTUGA LAÚD 334
C.2- TORTUGA VERDE 334
C.3- TORTUGA OLIVÁCEA 335
IV- DISCUSIÓN: 337
V- CONCLUSIONES 351
VI – BIBLIOGRAFÍA 352

VIII- DISCUSIÓN GENERAL 359
A –FISIOPATOLOGÍA DEL PROCESO Y APORTACIONES DE ESTE TRABAJO AL CONOCIMIENTO DE LA FISIOLOGÍA DEL BUCEO EN VERTEBRADOS BUCEADORES 362
B –APORTACIONES DE ESTE TRABAJO AL DIAGNOSTICO Y A LA MEJORA EN EL MANEJO DE TORTUGAS PROCEDENTES DE PESQUERÍAS EN CENTROS DE RECUPERACIÓN 369
C–APORTACIONES DE ESTE TRABAJO A LA MITIGACIÓN DEL IMPACTO DE LA PESCA Y LA CONSERVACIÓN DE LAS POBLACIONES DE TORTUGAS 373
D –FACTORES DE RIESGO A CONSIDERAR EN CASO DE INTERACCIÓN 376
E –OPCIONES PARA MINIMIZAR LA POSIBILIDAD DE ENCUENTRO Y LA INTERACCIÓN 382
F –EVALUACIÓN DE LA MORTALIDAD ASOCIADA A LA ENFERMEDAD 386
G –RECOMENDACIONES FINALES DERIVADAS DEL CONOCIMIENTO GENERADO 388
E –BIBLIOGRAFÍA 391

IX- CONCLUSIONES FINALES 407

X- PRODUCCIÓN CIENTÍFICA 411

XI- ANEXOS 415

DECLARACIÓN ÉTICA

A lo largo de todo el estudio, todos los trabajos llevados a cabo con tortugas vivas incluyendo los exámenes clínicos de las tortugas marinas realizados en la Comunidad Valenciana que suponen el grueso del trabajo de esta tesis, fueron realizados siguiendo las políticas, procedimientos y requerimientos establecidos por el Comité de Cuidado y Bienestar Animal (CCBA) de la Fundación Oceanogràfic registrada por la Generalitat Valenciana como centro usuario de investigación con número ES460250001024 en el Registro oficial de centros de Investigación y autorizado como Órgano Habilitado. Se contó también con la autorización de la Consellería de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica a través el convenio de colaboración establecido con el Oceanográfic para coordinar la respuesta veterinaria ante el varamiento de animales vivos. La información clínica generada en este estudio se deriva por tanto de la actividad veterinaria regular y los procedimientos previstos con el fin de establecer un diagnóstico y tratamientos adecuados en cada caso. En cuanto al tratamiento experimental con oxígeno hiperbárico, éste se administró inicialmente con el consentimiento expreso de la organización y de las autoridades gubernamentales, dirimiéndose como necesario en base a la presunción de la enfermedad descompresiva y los resultados fatales de casos previos similares que no recibieron tratamiento hiperbárico.

Por último, los estudios realizados específicamente para evaluar la incidencia y la evolución inmediata del embolismo gaseoso en tortugas capturadas accidentalmente que se llevaron a cabo en aguas del Océano Atlántico en las costas de Brasil y en aguas italianas del Adriático, fueron también aprobados por el CCBA del Oceanográfic y autorizados bajo los permisos pertinentes emitidos por los Gobiernos Brasileño e Italiano.

La manipulación y los protocolos de muestreo en las tortugas se han basado en el Manual de Técnicas de Investigación de aplicación en Tortugas Marinas elaborado por el National Marine Fisheries Service de los Estados Unidos (Stokes et al., 2008). Todos los procedimientos se realizaron de conformidad con las directrices y reglamentos nacionales y autonómicos existentes en el momento. En todo momento se hicieron los máximos esfuerzos para minimizar el sufrimiento animal.

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

NOTA: todas las imágenes, salvo que se especifique la fuente de origen, han sido obtenidas durante la actividad diaria a lo largo de estos años por personal del Oceanográfic o de su Fundación y se cuenta con la autorización para su uso en esta publicación.

Figura 1: Diagrama con las 7 especies diferentes de tortugas marinas indicando sus características morfológicas distintivas básicas, así como su estatus de conservación. Fuente: www.seeturtles.org 66

Figura 2: Diagrama representativo de la anatomía y fisiología básicas del corazón de las tortugas marinas. En rojo se representa la sangre oxigenada procedente de los pulmones y en azul la sangre desoxigenada procedente de circulación sistémica. A. Corazón en diástole (llenado) con el animal en superficie. Nomenclatura: RPA, Arteria pulmonar derecha; BCT, Tronco braquiocefálico; LAo, Aorta Izquierda; LPA, Arteria pulmonar izquierda; PS, Esfinter pulmonar; RAo, Aorta derecha; RA, Atrio derecho; LA, Atrio izquierdo; CV, Cavum venosum; CA, Cavum arteriosum; CP, Cavum pulmonale; V, Ventriculo. B. Corazón en sístole con el animal en superficie. El circuito pulmonar se mantiene permeable y funcional (azul). C. Corazón en sístole durante el buceo. Se produce un cierre de los esfínteres pulmonares y el circuito funcional se restringe a la circulación sistémica mediante un shunt intracardiaco derecha-izquierda. Fuente: (Garcia-Parraga et al., 2017) 69

Figura 3: Anatomía de los grandes vasos a su salida del corazón en una tortuga boba. Nótese que la cavidad ventricular permite la salida de sangre tanto por las aortas derecha e izquierda como a través del tronco pulmonar no existiendo una separación entre ambas y permitiendo el shunt. 71

Figura 4: Extracción de sangre del seno cervical dorsal (vena yugular externa) en una tortuga boba 72

Figura 5: Ejemplar de tortuga prehistórica procedente del registro fósil mostrando lesiones óseas compatibles con osteonecrosis disbárica. Fuente: (Rothschild and Naples, 2015) 74

Figura 6: Herida antigua de gran tamaño y origen desconocido en la zona cervical dorsal en una tortuga procedente de la captura accidental por arrastre. 80

Figura 7: Reconstrucción 3D a partir de una adquisición tomográfica de un ejemplar vivo con punta de pez espada alojada en la región cervical (elipse) tras penetrar a través del escudo nucal del caparazón (flecha). En este caso la herida estaba completamente cicatrizada y la punta secuestrada rodeada de tejido fibroso denso. 81

Figura 8: Aparición de una tortuga capturada accidentalmente en el interior del copo de una red de arrastre en Italia. 83

Figura 9: Ejemplares de tortuga boba capturados mediante arrastre y trasmallo y traídas a puerto para su entrega al servicio veterinario del Oceanográfic. 85

Figura 10: Imágenes tomográficas trasversales de 3 tortugas diferentes para la evaluación del campo pulmonar. A. Animal sin patología pulmonar evidente. B. Aspiración moderada de agua con incremento de la intensidad a nivel trabecular en algunas regiones del pulmón derecho. C. Animal con marcado edema pulmonar e incremento de la densidad del campo pulmonar como consecuencia de la aspiración de agua marina y edema asociado. 92

Figura 11: Grafico donde se representa el logaritmo del peso metabólico promedio de las diferentes especies (logMb)(kg) frente al logaritmo del valor medio de la presión venosa de nitrógeno (PvN_2) que causa síndrome descompresivo severo en el 50% de los pacientes tras una rápida descompresión (logED50). En el modelo se incluyen un amplio rango de especies tanto terrestres como buceadoras en base a datos experimentales y modelos matemáticos. La línea recta indica el mejor ajuste para la mayoría de las especies enfrentando el logED50 al logMb. Nótese como PvN_2 al final del buceo para el caso de los mamíferos marinos (representados en color gris) se encuentra muy por encima de la línea que marca la ED50 según el modelo predictivo de colapso alveolar por compresión hidrostática, lo que indicaría que deben existir mecanismos alternativos para minimizar la absorción de nitrógeno. Fuente: (Hooker et al., 2009)..... 99

Figura 12: Anatomía de los esfínteres de las arterias pulmonares en tortugas marinas. Mitad proximal de la porción extrapulmonar de las arterias tras su salida del tronco pulmonar. La porción más distal se encuentra a la izquierda de la imagen mientras que la porción proximal está a la derecha. A. Sección longitudinal del vaso mostrando el engrosamiento de su pared en la aproximación al tercio medio de la región extrapulmonar. Cerca de la base del corazón la arteria es mucho más fina y elástica (flechas blancas) que en su porción más distal donde la pared muscular es mucho más gruesa y el endotelio forma pliegues marcados. B. En la sección transversal del vaso fijado con formol podemos observar como en la región más distal se produce una oclusión total de la luz vascular como consecuencia de la retracción de la musculatura lisa. 100

Figura 13: Adaptación de un autoclave convencional de uso hospitalario para funcionar a modo de cámara hiperbárica en tortugas marinas. 121

Figura 14: Radiografía simple en proyección DV de ejemplares de tortuga boba a su llegada al CR. A. Animal normal. Nótese la buena definición del campo pulmonar. B. Animal con imagen pulmonar típica en panal de abeja por aspiración de agua. C. Tortuga con imagen típica de EG severo. Nótese la desaparición del contraste del campo pulmonar y la presencia de angiogramas como consecuencia de una masiva presencia de gas intravascular. El corazón también queda completamente delimitado por la abundante presencia de gas (asteriscos). Fuente: adaptado de (García-Párraga et al., 2014)..... 124

Figura 15: Signos clínicos en tortugas bobas a su llegada al CR: (a) ejemplar vivo con EG sistémico moderado. Nótese la espasticidad de las extremidades posteriores retraídas bajo el caparazón antes de terapia de recompresión. Estos signos se resolvieron inmediatamente después del tratamiento con oxígeno hiperbárico..... 125

Figura 16. Tras un periodo de observación de 60 días y la normalización de todos sus parámetros clínicos y comportamentales, los animales tratados se consideraron clínicamente sanos y fueron devueltos al mar. 126

Figura 17: Vista dorsal de la representación 3D de los espacios llenos de aire/gas de una tortuga con EG sistémico moderado antes (A) y después (B) de HBOT. Las imágenes se obtuvieron con un intervalo de 6 horas. Todo el gas se muestra en un color más evidente, y el gas intravascular está marcado con asteriscos. En (A) se puede observar la demarcación de las venas hepáticas y los vasos renales por la presencia de gas intraluminal antes del tratamiento. La expansión pulmonar está reducida. En (B), la mayoría de gas contenido en los grandes vasos casi ha desaparecido tras el tratamiento hiperbárico, indicando la reabsorción/eliminación del gas, mientras que la expansión pulmonar ha vuelto a la normalidad. Algunos vasos menores todavía contienen gas en la periferia de las áreas de proyección hepática y renal que no ha terminado de desaparecer con el tratamiento. Fuente: (García-Párraga et al., 2014)..... 127

Figura 18: Ecografía renal de un animal afectado de EG moderado mostrando la presencia de pequeñas manchas hiperecogénicas (blancas) compatibles con la existencia de burbujas de gas dispersas en el parénquima renal y en vasos renales y perirrenales..... 127

Figura 19: Evidencia de EG en Caretta caretta mediante tomografía computarizada. Imagen transversal del celoma a la altura del corazón (C) en un caso con EG sistémico severo, mostrando zonas evidentes de gas intraluminal (negro) en el interior de los principales vasos sanguíneos. El gas está presente en el sistema venoso hepático (H), las aortas derecha e izquierda (A), arterias pulmonares (AP), venas pulmonares (VP) y en el canal vertebral (CV). Los pulmones (P) están híper atenuados (blancos) debido al colapso parcial. El estómago (E) en este caso está distendido por la posible ingestión de agua de mar. 128

Figura 20: La presencia de gas en la vena abdominal media (flecha) fue detectable en los casos más severos inmediatamente tras la retirada del plastrón. En este caso también se puede observar tras la retirada del pericardio, la distensión importante de ambos atrios como consecuencia de la acumulación de gas en su interior. Atrio Derecho (AD). Atrio Izquierdo (AI). 130

Figura 21: Presencia de burbujas de gas en la vasculatura coronaria (flecha). Atrio Derecho (AD).. 130

Figura 22: Presencia de burbujas de gas en la vasculatura mesentérica. Congestión segmentaria de la mucosa intestinal. 131

Figura 23: Lesiones de congestión/hemorragia a nivel del parénquima renal..... 131

Figura 24: (A) Atrio derecho de un caso con EG severo. El lumen auricular muestra émbolos de gas coalescentes de forma multifocal (asteriscos), de tamaño variable, redondos u ovalados, negativos a la tinción grasa y comprimiendo el miocardio adyacente. Tinción H&E. (B) El riñón de un caso con EG moderado. Venas interreniculares multifocalmente ocupadas por émbolos de gas no grasos redondos u ovalados, de tamaño variable. Tinción H&E. (C) Pulmón de un caso con EG sistémico severo. Las venas pulmonares muestran émbolos de gas intravasculares de tamaño variable, redondos u ovalados, no grasos. Tinción H&E. Fuente: (García-Párraga et al., 2014) 132

Figura 25: Para confirmar el nitrógeno como principal componente y la causa de la EG y poder descartar la putrefacción o los artefactos generados por infiltración de gas atmosférico durante la necropsia o el

manejo del cadáver, se puede proceder a la recolección gas intravascular siguiendo los mismos protocolos definidos para otras especies (Bernaldo de Quirós et al. 2011). Fuente:(Parga et al., 2017) 132

Figura 26: Distribución de los casos en función de su origen. Nótese como la mayoría de los ingresos de tortugas a lo largo de los últimos 10 años procedieron de la región de Castellón, donde la plataforma continental se extiende aguas adentro y se permite el arrastre a profundidades menores de 50m. 148

Figura 27: El autor preparando una tortuga días después de su recuperación del accidente descompresivo para su exploración en la Resonancia Magnética Nuclear ubicada en la Plataforma de Radiología Experimental del IIS-La FE con el fin de poder detectar posibles secuelas. 151

Figura 28: Ejemplar mediano de tortuga boba en el interior de una cámara hiperbárica específicamente adaptada para el tratamiento en tortugas marinas. La cámara cuenta con manómetro, válvula de seguridad y conexión al cilindro de oxígeno. La presencia de una ventana de acrílico reforzada en la tapa permite observar la evolución del animal durante el tratamiento..... 153

Figura 29: Cámara hiperbárica Oxylife 90 de uso comercial para su empleo en medicina humana. Esta cámara de nueva adquisición cuenta con una adaptación en la que se sustituye la camilla por una bandeja de inoxidable y permite tratamientos de ejemplares de gran tamaño, a presiones más elevadas y con mezcla de gases. Cuenta demás con ventanas que son de vital importancia porque permiten la observación y monitorización del paciente durante el proceso. 154

Figura 30: Principales hallazgos externos en tortugas marinas capturadas accidentalmente por pesquerías de arrastre en la Comunidad Valenciana. A) Escoriaciones típicas a nivel del espaldar asociadas al proceso de arrastre. Nótense las líneas a modo de arañazos por todo el caparazón. B) Lesiones traumáticas en la piel del cuello y en la inserción de la aleta pectoral izquierda. C) Escoriaciones a nivel de la piel del borde palpebral. D) Lesión traumática en la parpado superior. La piel de los párpados es muy fina y de forma frecuente puede evidenciar lesiones en animales procedentes de pesca de arrastre. 158

Figura 31: Lesiones sufridas por el arrastre en la región ventral de las tortugas. A heridas en las placas córneas del plastrón en la región axilar. También se pueden observar zonas de abrasión dérmica con pérdida del estrato córneo superficial en la región ventral del cuello y base de la aleta pectoral. B Heridas por abrasión en la región ventral posterior del plastrón (zona inguinal), donde ha desaparecido todo el espesor del escudo córneo dejando expuesto el hueso subyacente. 159

Figura 32: Presencia de edema y prolapso cloacal en ejemplares procedentes de pesca de arrastre. Este hallazgo es poco frecuente y podría estar asociado con el incremento de presión intracelómica durante el arrastre o durante el izado del copo y la descarga de la pesca en cubierta o bien con un déficit del retorno vascular como consecuencia del síndrome descompresivo. 159

Figura 33: Evidencia de espuma saliendo por narinas como consecuencia de la aspiración de agua de mar durante la inmersión y el edema pulmonar. 160

Figura 34: Ejemplar comatoso de tortuga boba procedente de trasmallo monitorizado con ECG y doppler monofásico para controlar el pulso arterial. En algunos casos es preciso recurrir a la ecocardiografía para poder evaluar la frecuencia y calidad del latido cardiaco. 161

Figura 35: Ejemplar con retracción espástica del cuello y retracción y plegamiento de las aletas posteriores bajo el plastrón. 163

Figura 36: Ejemplar con retracción de ambas aletas pectorales bajo el plastrón. Este hallazgo no lo hemos visto asociado a ninguna otra patología en tortugas marinas ni se describe como tal en la literatura publicada. 164

Figura 37: Presencia de burbujas de gas intraoculares (en cámara anterior) en un ejemplar con EG severo que ingresó ya muerto en el CR. Este tipo de exploración ocular no se puede realizar en el animal vivo y consciente, pero sí es viable en casos muertos o comatosos. 165

Figura 38: Ejemplares de tortuga con EG severo al ingreso durante la extracción de sangre del seno cervical dorsal. Nótese la abundante presencia de burbujas que salen mezcladas con la sangre tanto en el cuerpo de la jeringa como en el extensor de la palomilla. En algunas ocasiones puede llegar a salir únicamente gas con algunos restos de sangre (derecha). 166

Figura 39: Obtención de una placa radiográfica en proyección DV de un ejemplar de tortuga marina. El animal está ubicado sobre un portachasis sobre el suelo que contiene el chasis radiográfico en su interior. Encima del animal (parte superior de la foto) se encuentra el tubo de rayos. Al fondo se encuentra el equipo de digitalización (digitalizador indirecto). 169

Figura 40: Imágenes radiográficas de 3 ejemplares de tortuga marina en el momento del ingreso. A Tortuga sana sin signos aparentes de enfermedad. Nótese la diferencia de contraste y expansión del campo pulmonar. B Tortuga afectada por EG moderado. Aparecen ya angiogramas definidos en las venas iliacas externas y sistema porta renal (flecha hueca) y zonas con angiogramas en región hepática (flecha amarilla). Nótese la reducción en la extensión y el contraste del campo pulmonar. C Ejemplar con EG severo. Se siguen marcando las venas porta renales, pero además se observa el corazón completamente distendido por el gas (flechas blancas) y las venas hepáticas muy dilatadas y completamente llenas de gas (flechas amarillas). El campo pulmonar ya no es visible en la placa debido al colapso. Este ejemplar ingresó muerto. Fuente: Imagen adaptada de (García-Párraga et al., 2014). 171

Figura 41: Proyecciones radiográficas estándar de un animal con embolismo leve. A Proyección DV. Nótese la ausencia de angiogramas evidentes y la normal extensión del campo pulmonar. B Proyección LL. Nótese la presencia de gas en la vasculatura renal (óvalo) que no era apenas evidenciable en proyección DV. 172

Figura 42: Imágenes radiográfica LL de 4 tortugas con diferente grado de embolismo. A tortuga sana. No se aprecia la presencia de gas en el área de proyección renal (región posterior al pulmón). B caso leve mostrando únicamente una ligera cantidad de gas en la vasculatura renal que se aprecia justo por detrás de la silueta pulmonar (flecha). C Caso de embolismo moderado mostrando más zonas

radiolúcidas en la zona posterior al pulmón. Nótese también la presencia de edema pulmonar como consecuencia de la aspiración de agua. D Caso de embolismo severo. Se observa una amplia región retropulmonar donde se puede evidenciar la presencia de gas y una importante restricción en el área de expansión pulmonar. Ventral al pulmón también se observan angiogramas en la zona de proyección hepática. 173

Figura 43: Radiografías de 3 ejemplares con signos compatibles con aspiración de agua de mar. A Radiografía DV de un ejemplar con aspiración leve. Nótese la imagen típica en panal de abeja que se asocia al edema pulmonar en una región del pulmón izquierdo. B Radiografía DV de un ejemplar con aspiración y encharcamiento masivo de agua de mar afectando a ambos pulmones en toda su extensión. Además, se observan signos de EG moderado en región renal, venas marginales-costales y la vasculatura periférica de las extremidades. C Radiografía LL de un ejemplar con aspiración leve que se evidencia como zonas más radiopacas (blancas) dentro del campo pulmonar. Este ejemplar también presenta un embolismo leve perceptible por la presencia de gas (zonas radiolúcidas) en el área de proyección renal (justo caudal a donde finaliza la silueta pulmonar). 174

F**igura** 44: Radiografías DV de 4 ejemplares de tortuga marina con EG severo. Nótese la falta de contraste del campo pulmonar en todas ellas. A ejemplar donde se puede apreciar la distensión por el gas de las venas hepáticas y venas marginales-costales (flechas). B Ejemplar donde se evidencia la presencia de abundante cantidad de gas en venas hepáticas, venas iliacas externas y sistema porta renal (flechas) entre otras. Ejemplar intubado. C Distensión por el gas de las venas iliacas externas, porta renales y la postcava (flechas) así como de las venas hepáticas hasta las regiones mas marginales del hígado. En este ejemplar la silueta pulmonar llega a ser algo más patente. Ejemplar intubado. D distensión por el gas de la vena iliaca izquierda y la postcava (flechas) así como de las venas hepáticas. 175

Figura 45: Radiografía de un ejemplar con EG masivo. Nótese la enorme distensión de la postcava (PC), las venas renales (R), las venas hepáticas (H) y las cámaras cardiacas (C). Los vasos hepáticos son visibles prácticamente en toda el área de proyección del hígado. El animal está intubado. 176

Figura 46: Radiografías DV y CC de un ejemplar con EG severo. Nótese la perdida de definición del campo pulmonar tanto en la proyección DV como en la CC. Aunque menos informativa que las proyecciones DV y la LL, la proyección cráneo caudal (CC) también puede dar información sobre el grado de expansión pulmonar y la presencia de focos neumónicos donde se evidencie la aspiración de agua. 177

Figura 47: Imagen ecográfica a través de la fosa prefemoral izquierda para la evaluación del riñón en un ejemplar de tortuga boba con embolismo severo. Nótese la falta de resolución por la incapacidad de penetración de los ultrasonidos ante la abundante presencia de gas..... 179

Figura 48: Imágenes ecográficas de riñones sanos de tortugas marinas donde se puede observar la arquitectura normal del parénquima y los vasos renales y perirrenales. La sangre en el interior de los vasos, aunque hipoecogénica con respecto al parénquima, es de forma normal más ecogénica que en el caso de los mamíferos o las aves. Esto es un hallazgo normal en tortugas marinas. Imágenes A y B sección longitudinal de un lóbulo renal con sonda lineal de alta resolución. En la parte derecha de la

imagen B se observa imagen compatible con la presencia de gas porque se produce cierto solapamiento con el pulmón adyacente al riñón. C y D Secciones longitudinal y transversal con sonda microconvex. Nótese que con estos presets el parénquima se ve más realzado, pero es un hallazgo normal. E y F Vasos perirrenales en sección transversal y longitudinal con sonda lineal de alta resolución. 180

Figura 49: Imágenes ecográficas de hígados sanos de tortugas marinas donde se puede observar la arquitectura normal del parénquima y las venas hepáticas. En C se observa cierta cantidad de líquido libre en cavidad celómica (negro). 181

Figura 50: Imágenes renales obtenidas de tortugas con diferente grado de embolismo con sonda microconvex a través de la fosa prefemoral. A y B Animales sin EG. Las zonas hiperecogénicas se corresponden con presencia de gas intestinal en sección transversal (A) o longitudinal (B). C y D presencia de embolismo leve detectable como pequeños puntos hiperecogénicos en el parénquima renal y en algunos vasos renales (D). E y F. Embolismo moderado. La presencia de gas en el parénquima es ya bastante evidente generando artefactos e impidiendo la penetración de los ecos en mayor profundidad. 182

Figura 51: Imagen de alta resolución mostrando burbujas de gas (hiperecogénicas, blancas) en la luz de los vasos perirrenales. En la imagen A no se percibe tanto el artefacto, pero se definen muy bien las burbujas en la luz del vaso. En B es patente la imagen en cola de cometa que dejan las burbujas en el campo profundo. 183

Figura 52: A Ecografía hepática mostrando signos de EG con acúmulo de gas en el parénquima. Imagen procedente de un animal con un grado moderado de EG. B Asas intestinales con contenido alimenticio/fecal en su interior. Es importante no confundir el gas digestivo o pulmonar que por proximidad anatómica pueden localizarse cerca de la región renal o hepática con gas patológico procedente de un evento descompresivo. 183

Figura 53: Imágenes ecográficas de un mismo ejemplar de tortuga boba con embolismo moderado. En las imágenes A, C y B se observan distintos cortes del parénquima renal a través de la fosa prefemoral con la sonda lineal de mayor resolución (12MHz). Las zonas hiperecogénicas se corresponden a puntos con mayor acumulo de burbujas. Las imágenes B, D y F están obtenidas con la sonda microconvex de 8MHz la cual ofrece menor resolución, pero mayor penetración en el tejido (mayor profundidad). Las imágenes B y D dejan ver el parénquima renal con abundante gas acumulado (blanco) así como algunos artefactos en cola de cometa por el gas contenido en algunos de los vasos perirrenales. La imagen F se corresponde a una sección del parénquima hepático a través de la ventana axilar derecha. La vasculatura hepática también muestra la presencia de abundante cantidad de gas (hiperecogénico). Nótese también la presencia de un aumento del líquido libre (negro) en el espacio celómico. 184

Figura 54: Imágenes ecocardiográficas obtenidas en una tortuga marina con EG moderado mediante sonda microconvex de 8 MHz. AI Atrio izquierdo. AD Atrio derecho V ventrículo. Nótese la presencia de abundante gas atrapado en la pared del atrio derecho generando un fuerte artefacto en cola de cometa (flechas). 185

Figura 55: Imágenes ecocardiográficas obtenidas en tortugas marinas con sonda microconvex de 8 MHz. A Animal sano sin signos de embolismo. B y C: presencia de gas en cámaras cardiacas. Burbujas circulantes y retenidas en la pared de atrios y ventrículos. AD: Atrio derecho. V Ventrículo. 186

Figura 56: Adquisición tomográfica en tortugas marinas con signos de descompresión en las instalaciones del Hospital Valencia Sur. Los animales generalmente se introducen sedados con propofol para minimizar el movimiento. 188

Figura 57: Tortuga con los ojos vendados durante su exploración tomográfica en las instalaciones del Oceanográfic. 189

Figura 58: Hallazgos tomográficos en un individuo con leve aspiración de agua de mar afectando principalmente a la región perihiliar del pulmón izquierdo y levemente al derecho. A. Sección transversal a la altura del corazón. El pulmón izquierdo aparece marcadamente hiperatenuado. B. Sección parasagital atravesando la zona afectada por el edema. Nótese el engrosamiento de la pared de los faveolos. C Sección coronal u horizontal de ambos pulmones mostrando las regiones hiperatenuadas compatibles con edema por aspiración. D Vista dorsal de una Reconstrucción Volumétrica en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior del animal. Se puede evidenciar un realce de la señal en la zona del pulmón izquierdo donde se circunscribe el edema pulmonar tras la aspiración. 190

Figura 59: Adquisición tomográfica transversal de dos tortugas marinas donde se puede observar la presencia de gas asociado al tracto digestivo. Es importante distinguir estos posibles hallazgos con el EG por descompresión. A Región media caudal del celoma donde se observan distintas asas intestinales en sección transversal con contenido mineral (hiperatenuado, blanco) y algo de gas asociado (hipoatenuado, negro). B Región media con evidencia de cierta presencia de gas asociado al contenido estomacal (a la izquierda de la imagen). 191

Figura 60: Hallazgos tomográficos representativos asociados a un caso de embolismo leve-moderado. A Sección tomográfica sagital mostrando la presencia de gas en el canal vertebral. B Ausencia de gas en cámaras cardiacas o parénquima hepático a nivel craneal. En este corte sólo es perceptible la presencia de algo de gas patológico en la grasa pericelómica. C. Corte coronal u horizontal justo por debajo del plano pulmonar. Se puede evidenciar la presencia de aire en vasculatura renal y algo también en la región media del hígado..... 192

Fi**gura** 61: Ejemplar afectado por un grado leve de embolismo mostrando la presencia de burbujas de gas en el canal vertebral. El gas localizado en esta región no es detectable mediante radiografía simple ni ecografía, debiendo recurrir a la tomografía para su confirmación. 192

Figura 62: Imágenes de detalle mostrando hallazgos tomográficos en sección transversal de embolismo leve a moderado. A. Sección a nivel del corazón donde sólo se puede llegar a detectar algo de gas patológico en la región más dorsal de la vasculatura hepática. Esta región normalmente por su ubicación en profundidad en el celoma no es explorable por ecografía y si las cantidades de gas no son muy grandes tampoco se puede evidenciar por radiografía. Así la tomografía es la técnica de elección en estos casos más leves para confirmar la presencia y distribución del gas. B. Sección a nivel de los

riñones mostrando una mayor presencia de gas en las venas renales del lado derecho. El riñón si es fácilmente accesible para su exploración por ecografía en prácticamente todos los animales..... 193

Figura 63: Hallazgos tomográficos representativos asociados a casos de embolismo moderado. A Nótese la presencia de gas infiltrado en la grasa pericelómica y en algunos vasos mesentéricos. B Gas presente en vasculatura renal, pero en este caso no es detectable en grasa pericelómica. C Gas en grasa pericelómica y en vasculatura mesentérica asociada al tracto digestivo (centro e izquierda de la imagen) D. Gas en vasculatura de la pared gástrica (izquierda de la imagen), hígado (derecha de la imagen) y en grasa pericelómica. 194

Figura 64: Diferentes imágenes de embolismo renal grave asociados a casos de EG moderado (B y C) y severo (A y D). Nótese el detalle de los angiogramas por hipo-atenuación de toda la vasculatura renal. 194

Figura 65: Imágenes más representativas de TC en sección transversal de cabeza a cola de un animal afectado por EG severo. A Cabeza. Se puede observar la presencia de gas en el interior de los globos oculares y el espacio retrobulbar. B, Región celómica craneal a la altura de la base del corazón. Región media craneal donde se puede ver perfectamente el atrio derecho lleno de gas, así como los principales vasos a la salida del corazón. D y E región media del celoma donde se evidencian grandes vasos a la salida del corazón y la vascularización hepática completamente distendida por el gas. Nótese también la restricción en la expansión del campo pulmonar como consecuencia de la expansión del hígado. F Región celómica media caudal. Se observan fundamentalmente asas intestinales con aire en su interior pero también se evidencia gas en vasos mesentéricos, en la grasa pericelómica y en el canal vertebral. G. Región celómica posterior con presencia masiva de gas a nivel de toda la vasculatura renal. El gas es también visible en el interior del canal vertebral. 195

Figura 66: Imágenes tomográficas tipo en sección transversal de celoma craneal a caudal en un ejemplar afectado por EG severo. A Nótese la presencia de gas en cámaras cardiacas (A), la distensión de las venas hepáticas por el gas (B, C, D), la presencia de gas en el tronco mesentérico (E) y el gas delimitando toda la vasculatura renal (F). El colapso pulmonar por la expansión de las vísceras y órganos celómicos es evidente (A, B, C, D, E). 196

Figura 67: Vista dorsal de 4 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior de los animales, correspondientes a los 4 grados de afectación por EG. A Sin EG, B EG Leve, C EG Moderada, D EG Severa. A medida que el embolismo aumenta en severidad, se observan más regiones que contienen gas extrapulmonar. En el caso A, sin EG, las zonas de gas extrapulmonar se corresponden con gas en el interior del aparato digestivo. 196

Figura 68: Vista lateral de 3 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior de las tortugas, correspondientes a un caso sin EG (A) y a un caso con EG moderado (B). El gas patológico se evidencia fundamentalmente en vasos hepáticos y sobre todo renales (caudales al pulmón). Nótese la reducción en la expansión del campo pulmonar..... 197

Figura 69: Vista craneal o anterior de 3 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior de las tortugas, correspondientes a un caso sin EG (A), un caso con EG

moderado (B) y un caso con EG severo (C). Una vez más a medida que el embolismo aumenta en severidad, se observan más regiones que contienen gas extrapulmonar y se pierde la definición de las estructuras. B El gas patológico se evidencia en vasos hepáticos y grasa pericelómica (flechas amarillas). C El pulmón quede completamente comprimido contra el interior del espaldar (flechas blancas) como consecuencia de la sobreexpansión hepática por efecto del gas. 198

Figura 70: Vista dorsal (A), craneal (B) y lateral (C) de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG severo mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. Nótese la pérdida de definición del campo pulmonar que queda muy reducido de tamaño y la distribución del gas patológico por toda la vasculatura del animal. En la vista dorsal, el pulmón impide ver con nitidez el resto de los órganos afectados. 199

Figura 71: A Vista dorsal de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG severo masivo mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. En casos tan severos llega a hacerse evidente por el contraste del gas hasta la vasculatura principal de las extremidades. 200

Figura 72: Vista dorsal (A), craneal (B) y lateral (C) de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG leve mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. Nótese la presencia de gas patológico únicamente en la región renal (óvalos). La presencia de cirrípedos epibiontes adheridos a su caparazón, generan un artefacto que complica el diagnóstico y podría llevar a confusión. 201

Figura 73: Vista dorsal de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG severo mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. Nótese la pérdida de definición del campo pulmonar que queda muy reducido de tamaño y la distribución del gas patológico por toda la vasculatura del animal. En la vista dorsal, el pulmón impide ver con nitidez el resto de los órganos afectados (A). Tras la eliminación de los pulmones del modelo 3D y evitar el solapamiento, se puede valorar mucho mejor la distribución y alcance del gas en cámaras cardiacas, región hepática y grandes vasos. 202

Figura 74: Imágenes coronales de RMN T2-weighted sin contraste mostrando la anatomía interna de la región craneal y media del celoma en tortugas sanas. Nótese la excelente resolución de imagen para evaluar los tejidos blandos. 205

Figura 75: Imágenes axiales de RMN T2-weighted sin contraste mostrando la anatomía interna de la región craneal media (A) y caudal (B) del celoma en tortugas sanas. Nótese la excelente resolución de imagen para evaluar los tejidos blandos y la falta de resolución para los tejidos duros (hueso) o el aire (pulmón). P, pulmones; E, esófago; S, estómago; H, hígado, C, corazón (borroso por el movimiento durante el latido), G, grasa pericelómica; M, músculo; K, riñón, R, recto, V, vejiga de la orina. 205

Figura 76: Imágenes de RMN asociadas con la presencia de lesiones renales en un animal afectado por EG severo y tratado con HBOT. A Imagen axial de RMN T2-Weighted donde se puede apreciar una lesión isquémica en cuña de bordes ligeramente hiperintensos en la corteza renal derecha (flecha). El animal fue capturado y tratado 4 días antes. B Imagen axial de RMN T1-Weighted del mismo animal 20 días después de la primera adquisición donde se puede apreciar la lesión renal hipointensa en cuña de forma mucho más evidente (flecha). C Urografía axial de contraste tras la administración de

gadolinio 4 días tras la captura. Nótese la falta de captación de contraste en el riñón izquierdo y el defecto de llenado en la cuña afectada del riñón derecho (flecha). D Urografía coronal de contraste en fase tardía donde únicamente se evidencia producción de orina y eliminación de contraste por el riñón derecho (flecha). 206

Figura 77: Imágenes coronales de RMN T2-weighted y T1-weighted sin contraste mostrando la anatomía interna de la región celómica caudal en una tortuga sana (A) y una tortuga con lesiones renales 20 días después del evento descompresivo (B). En ambos casos las flechas apuntan al parénquima renal. En la imagen B se observa una mayor heterogeneidad del parénquima con regiones más hiperintensas potencialmente asociadas a zonas dañadas por la isquemia (flecha solida)..... 207

Figura 78: Imágenes mielográficas sagitales de RMN en T1 y T2-weighted myelography mostrando una zona de lesión a nivel de la médula espinal (flecha). El animal clínicamente mostraba una parálisis flácida y perdida de sensibilidad en la mitad posterior del cuerpo. 207

Figura 79: 3 ejemplares diferentes muertos tras recuperarse vivos del aparejo y desarrollar DCS con EG severo. Nótese la retracción de las aletas bajo el plastrón (flechas) y en A y C la retracción y lateralización de la cabeza respectivamente. En nuestra experiencia estos hallazgos no son observables en ninguna otra enfermedad. 228

Figura 80: Ejemplar de tortuga boba con signos evidentes de aspiración de agua de mar y DCS. Nótese la presencia de espuma y líquido saliendo por narinas y boca como consecuencia del edema pulmonar, así como la retracción de las aletas bajo el plastrón e inclinación del cuello durante el rigor mortis. 228

Figura 81: Artefacto generado como consecuencia de la congelación de los cadáveres. A Serie tomográfica de cabeza a cola con las imágenes más representativas correspondientes a un animal con embolismo leve-moderado. B. Los mismos cortes, del mismo animal y bajo los mismos parámetros de adquisición tras permanecer 48h en una cámara de congelación. Nótese el incremento muy significativo del gas intravascular y en los tejidos a lo largo de todas las secciones. 229

Figura 82: Vista dorsal de 3 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire, correspondientes a una misma tortuga para mostrar el artefacto que se genera como consecuencia de la congelación de los cadáveres. A Animal con embolismo leve-moderado. B. Mismo animal congelado tras permanecer 48h en una cámara a -23ºC. C Mismo animal tras un proceso de descongelación. Nótese el incremento muy significativo del gas intravascular y en los tejidos. Con la descongelación (C), se produce cierta reabsorción del gas que salió de la solución durante la congelación en vasos (flechas) y corazón (elipse) pero en cualquier caso el artefacto de agravamiento de la severidad permanece. 230

Figura 83: Técnica de necropsia. Para la apertura del animal se debe primero retirar el plastrón con la mínima tracción posible antes de iniciar la sección de vasos con el fin de no producir artefactos por infiltración de aire. 231

Figura 84: Casos severos. A. La presencia de gas en la vena abdominal media visible entre la grasa pericelómica es detectable en casos severos inmediatamente tras la retirada del plastrón. B. Detalle de las burbujas en el interior de la vena abdominal media (flechas). C Exposición del saco pericárdico antes de su apertura bajo la musculatura pectoral donde se puede intuir perfectamente la distensión por el gas de ambos atrios (flechas). 232

Figura 85: Vista ventral del corazón de 4 ejemplares con EG severo mostrando ambos atrios completamente distendidos por el gas. En C se puede observar como consecuencia del embolismo, la congestión de algunas sinusoides hepáticas en algunas regiones del órgano y la palidez como consecuencia de la isquemia en otras porciones del hígado. Aunque en casos severos se llegan a afectar los dos, por regla general el atrio derecho siempre suele verse afectado antes y en mayor gravedad que el izquierdo (C y D). 233

Figura 86: A. Vista dorsal del ventrículo tras reflejar el órgano ventralmente para exponer el seno venoso a la cámara, el cual se evidencia lleno de burbujas. El atrio derecho típicamente está más afectado por la presencia de gas que el izquierdo que también contiene algunas burbujas. Nótese la presencia de burbujas también en los vasos coronarios que recorren el ventrículo. B Distensión del atrio derecho y congestión de vasos coronarios. Toma de muestra de líquido del saco pericárdico. C Presencia de burbujas en vascularización coronaria. D Presencia de hemorragias sub-epicárdicas asociadas con un cuadro de EG severo. 234

Figura 87: Casos severos con evidente presencia de gas en vasos mesentéricos (A,B yC) y en mesos y en la vascularización que discurre por los ligamentos como el gastrohepático y en serosa gástrica (D). Nótese la distensión de las venas por el gas. En el recorrido de las venas por el mesenterio se pueden observar también las arterias mucho más finas y opacas (blancas) donde las burbujas también están presentes, pero son mucho menos evidentes. Sobre las serosas se evidencian zonas de isquemia y de congestión asociada. 235

Figura 88: A. Caso severo de EG con presencia de abundante cantidad de gas distendiendo la vasculatura de la serosa gástrica. Nótense las zonas de congestión y hemorragia asociadas. B. Vasos mesentéricos exangües y completamente distendidos por el gas. La porción de intestino implicada se ve claramente congestiva. 236

Figura 89: Vascularización esplénica afectada por el EG severo. El bazo en algunos casos puede llegar a estar enfisematoso. 236

Figura 90: Congestión segmentaria de la mucosa intestinal tras su apertura. Se pueden observar bandas de isquemia y congestión (flechas) a lo largo de diversas porciones del tracto intestinal. A fotografía de detalle. B. Apertura del tracto digestivo completo desde el esófago (izquierda de la imagen) hasta la cloaca. 237

Figura 91: A Presencia de trasudado celómico abundante asociado a un proceso de EG severo que lleva a una extravasación de suero sanguíneo e incremento del hematocrito. El trasudado en estos casos es más abundante y amarillento que el líquido celómico en condiciones normales. B Ligero aumento del líquido celómico en un caso moderado. 238

Figura 92: Evidencias de aspiración de agua de mar en la apertura del aparato respiratorio. A) Abundante presencia de espuma tras la sección de la tráquea. B) Pulmones rezumando abundante líquido y espuma tras la sección del parénquima. C) Abundante presencia de líquido en el interior de uno de los pulmones tras su sección. D) Tras la eliminación del líquido y la espuma, el parénquima de los pulmones afectados queda edematosos y exudativos. Se aprecian también zonas de congestión. 239

Figura 93: Tortugas afectadas por enfermedad descompresiva. En algunos casos la región más craneal de los pulmones puede aparecer enfisematosas y completamente distendidas por el gas (no se colapsa tras la apertura)..... 239

Figura 94: Lesiones renales observadas en tortugas afectadas por enfermedad descompresiva. A) Apertura de la membrana celómica visceral para exponer los riñones que ya se aprecian congestivos a su través. B) Presencia de gas en venas renales. Se aprecia asimismo la presencia de zonas de congestión en el parénquima. C) Detalle de uno de los riñones de un animal afectado mostrando zonas oscuras de congestión y otras más claras de isquemia. D) Exposición de la cara ventral de ambos riñones tras la eliminación de los órganos internos y la retirada de la membrana celómica. Obsérvese la congestión de la porción caudal de ambos riñones. Anatómicamente se aprecia como los riñones se ubican justo por detrás del borde caudal del pulmón. E) Imagen de la cara dorsal de ambos riñones mostrando áreas de fuerte congestión/hemorragia especialmente en su polo caudal. F) Sección de uno de los riñones de un animal afectado mostrando zonas corticales isquémicas (pálidas) y zonas corticales de congestión/hemorragia (oscuras). 240

Figura 95: Evaluación de las venas renales (flechas) y las gónadas durante la necropsia. A) Ovario inmaduro ubicado justo a la entrada del hilio renal donde se pueden observar las venas renales llenas de burbujas de gas (flechas). B) Testículo inmaduro ubicado justo entre el pulmón y el riñón sobre el hilio renal donde se aprecia la presencia de abundante cantidad de gas (flechas). El testículo en si también se muestra congestivo en algunas porciones. 241

Figura 96: Tras la apertura del cráneo se puede evidenciar la presencia de burbujas de gas en vasos meníngeos encefálicos en 3 especímenes muertos como consecuencia de un cuadro de DCS. Aquí una vez más es muy importante hacer una disección muy cuidadosa para no generar artefactos al traccionar de las meninges..... 241

Figura 97: Presencia de burbujas de gas en líquido sinovial en la articulación coxofemoral de un animal afectado por EG severo. 242

Figura 98: Técnica con tubos vacutainer para la adecuada toma de muestras de gas según (Bernaldo de Quirós et al., 2011) para la verificación posterior de su composición mediante el análisis laboratorial por cromatografía de gases..... 242

Figura 99: Ejemplar de tortuga marina recién entregado al equipo de rescate en puerto. Siempre que es posible se procede a hacer un examen preliminar y estabilizar al paciente antes de su transporte por carretera hasta el CR..... 245

Figura 100: Ejemplares comatosos intubados antes de iniciar una terapia corta de recompresión.. 249

Figura 101: Ejemplar de tortuga marina con EG sometida a tratamiento con oxígeno normobárico. Nótese que la cuba tiene algo de agua (dulce) para conferir algo de flotabilidad al animal y facilitar la respiración. Al mismo tiempo el agua puede facilitar la hidratación. La toma de oxígeno del concentrador debe atravesar el plástico que sella la parte superior de la cuba de tratamiento que debe ser estanca. Es importante controlar la temperatura de los animales para que no suba ni baje demasiado. 250

Figura 102: Ejemplares de tortuga boba tras el ingreso en el CR en estado comatoso y ser intubados con un tubo endotraqueal, mostrando signos de edema pulmonar (flechas amarillas: salida de agua y espuma por el tubo) como consecuencia de la aspiración de agua de mar. Mantener la vía respiratoria permeable es fundamental en caso de que el animal no respire, pudiendo introducirse así en la cámara hiperbárica si no se consigue reanimar. El animal en la fotografía (A) muestra además una aguja de insulina insertada en el philtrum nasal (acupunto GV26) (flecha naranja) con el fin de estimular la respiración. La colocación de la tortuga en un plano inclinado (B) puede favorecer la eliminación de líquidos. Es fundamental recuperar la máxima capacidad y funcionalidad pulmonar antes de introducir a los animales en la cámara para maximizar los beneficios de la terapia HBOT. 252

Figura 103: Radiografía simple DV de un ejemplar de tortuga marina ingresado con EG moderado. A: Imagen antes del tratamiento. Nótese la presencia de angiogramas de gas en grandes vasos sistémicos y renales, así como la falta de contraste del campo pulmonar como consecuencia de la compresión. B: Imagen tras 14h de tratamiento HBOT donde se evidencia la desaparición de los angiogramas y el restablecimiento 253

Figura 104: Radiografía simple LL del mismo ejemplar del caso anterior ingresado con EG moderado. A: Imagen antes del tratamiento. Nótese la presencia de angiogramas de gas en la región renal (caudal al pulmón) y hepática (ventral al pulmón) así como la falta de expansión del campo pulmonar normal. B: Imagen tras 14h de tratamiento HBOT donde se evidencia la desaparición de los angiogramas y el restablecimiento de la expansión pulmonar normal. Se puede apreciar una pequeña cantidad de gas residual post tratamiento en la región del riñón (óvalo), indicando que la duración de la terapia se ha podido quedar ligeramente corta. 254

Figura 105: Imágenes de TC obtenidas de un individuo con embolismo leve-moderado tratado de forma experimental con perfluorocarbonos (PFCs) según recomendaciones del fabricante. A) Sección tomográfica transversal del celoma medio craneal a la altura del corazón. Nótese la presencia de gas principalmente en vasos hepáticos. B) Misma sección que en el caso anterior, pero 1,5h tras la administración de los PFCs. La sensación es que el gas intravascular se ha expandido definiéndose aún más los vasos. C) Vista dorsal de una recreación tridimensional de los espacios llenos de gas de la tortuga 1 hora tras la administración de los PFCs. Se evidencia la presencia fundamentalmente de gas patológico en la región renal. D) Misma vista que la anterior 14 horas tras la administración de los PFCs, donde ya prácticamente no queda gas intravascular (excepto muy levemente en la región renal).. 255

Figura 106: Ejemplar procedente de trasmallo con EG moderado y aspiración de agua de mar (imagen pulmonar en panal de abeja). En estos casos, casi el 50% de los animales que llegan vivos al CR terminan

muriendo a pesar del tratamiento. El tiempo transcurrido hasta iniciar la terapia HBOT en estos casos es vital que se reduzca lo máximo posible. 257

Figura 107: Imágenes de en T2 de RMN, sección transversal (A) y horizontal (B) de la región renal donde se puede apreciar una lesión de infarto por isquemia renal (flechas) en un animal que sufrió embolismo moderado y fue tratado con HBOT 3 semanas antes de esta adquisición. El animal se recuperó parcialmente del proceso, pero quedó parapléjico. 258

Figura 108: Imágenes ecográficas de 6 tortugas diferentes que han sufrido EG y se han recuperado clínicamente tras la terapia HBOT. Nótese como el parénquima renal tras el embolismo permanece libre de gas, pero se muestra muy heterogéneo con zonas más ecogénicas (*) y otras más hipoecogénicas (+). Imagen compatible con lesión renal aguda post isquémica. La ecografía en principio es una técnica mucho más sencilla de aplicar, económica y con menos afectación para el paciente que la resonancia. 259

Figura 109: Imágenes histológicas del corazón de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de una lesión espinal permanente. Histológicamente el corazón muestra necrosis miocárdica y fenómenos reparativos asociados..... 260

Figura 110: Imágenes histológicas del hígado de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de una lesión espinal permanente. Histológicamente el hígado muestra necrosis hepática por coagulación y fenómenos inflamatorios/ reparativos asociados. 260

Figura 111: Imágenes de un riñón de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de una lesión espinal permanente. A. Macroscópicamente el riñón muestra zonas de palidez en su superficie (flechas) que se corresponden con posibles zonas de infarto/necrosis por isquemia. B) al corte estas zonas más pálidas profundizan en el parénquima (flecha). Estas lesiones también se evidenciaron mediante RMN (fig 108) en el mismo animal. C) Imagen histológica de una de estas zonas de afectación renal donde se ve degeneración de las células y dilatación de los túbulos renales (flecha blanca) así como posibles focos de nefropoiesis (flechas huecas amarillas). 261

Figura 112: Imágenes de la médula espinal de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de esta lesión espinal. A. Macroscópicamente la médula y meninges asociadas mostraron una zona de congestión/hemorragia (flechas) que ya fue visible como zona de inflamación de la médula en RMN dos semanas antes en este mismo animal (fig 77). B) Imagen histológica a pocos aumentos donde se pueden apreciar focos de inflamación (mielitis) (flechas). C) Imagen histológica de la sección de médula afectada donde se puede apreciar la desmielinización y degeneración axonal (flechas) así como zonas de infiltración de células inflamatorias redondas. ... 262

Figura 113: Configuración de redes en la cubierta antes del primer lance. Buques arrastreros: Francesco Padre (izquierda), Argonauta (derecha) en los que se realizó el estudio en aguas del Adriático..... 278

Figura 114: Recogida de tortugas capturadas por otros barcos colaboradores para su entrega en puerto. 279

Figura 115: Participación de pescadores en el trabajo del proyecto de investigación con tortugas. El apoyo del personal a bordo fue fundamental para poder completar las acciones previstas..... 280

Figura 116: Dos de los barcos pesqueros de arrastre que participaron en el estudio. 281

Figura 117: Zona donde operó la flota pesquera italiana durante el periodo de estudio. Asterisco: Puerto de Bisceglie. Contorno amarillo: región de Puglia. Zona marítima rayada en rojo: zona de pesca donde se llevó a cabo el estudio. 281

Figura 118: Trayectos cubiertos por dos de los barcos involucrados en la campaña en Italia durante enero y febrero del 2020. Línea azul claro: Argonauta; línea oscura: Francesco Padre. Los puntos marcados con la bandera fuera de la línea de unión corresponden a ubicaciones de pesca durante la campaña anterior (2019)..... 282

Figura 119: Zona de trabajo en la cubierta de la nave. El examen por ultrasonido siempre se trató de llevar a cabo lejos de áreas expuestas a salpicaduras o inundables. 285

Figura 120: Detalle del sistema de anclaje de la marca. En el caso de Italia los pop-ups se unieron al caparazón con epoxi y fibra de vidrio. El veterinario sujeta la marca en la posición normal en la que se mantiene en el agua debido a su flotabilidad positiva. En el caso de Italia, todos los animales fueron liberados de forma inmediata tras la colocación de las marcas y el curado de la resina (generalmente entre 1 y 2 horas), mientras que en el caso de Brasil todos los animales marcados se mantuvieron en cubierta para observar su evolución para ser liberadas a las 2 horas de su captura. 286

Figura 121: Conjunto de marcas Pop-Up recibidas en enero de 2019 para el proyecto llevado a cabo en aguas del Adriático. 287

Figura 122: Tortuga ya marcada y recuperándose sobre una cuba durante el curado de la resina. Nótese la presencia de un paño oscuro tapando los ojos para reducir su nivel de actividad y facilitar su manejo a bordo del buque. 287

Figura 123: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de las 3 variables cuantitativas que mostraron significatividad (profundidad temperatura y tiempo de calado) frente a la mortalidad.. 300

Figura 124: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de las 3 variables cuantitativas que mostraron significatividad (profundidad, peso y LCC) frente al desarrollo de embolismo. 301

Figura 125: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de las 2 variables cuantitativas que mostraron significatividad (profundidad y tiempo de calado) frente a la mortalidad en pesquerías de arrastre. 306

Figura 126: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de la profundidad y tiempo de calado frente a la mortalidad en pesquerías de trasmallo. En este caso no se observan diferencias significativas. 307

Figura 127: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de la profundidad y tiempo de calado frente al desarrollo de EG en pesquerías de arrastre. En este caso se observan diferencias significativas en el caso de la profundidad, pero no así en el tiempo de calado. 307

Figura 128: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de la profundidad y tiempo de calado frente al desarrollo de EG en pesquerías de trasmallo. En este caso no se observan diferencias significativas frente a ninguna de las dos variables. 308

Figura 129: Tortuga cubierta de limo en cubierta tras ser extraída del copo, esperando para ser explorada por el investigador tan pronto los pescadores terminen de volver a calar las redes. 315

Figura 130: Dos tortugas bobas antes de ser evaluadas por los investigadores mientras los pescadores terminaban de clasificar el pescado. 315

Figura 131: Ejemplar con signos neurológicos mostrando, inmovilidad, respuesta pobre a estímulos, retracción y lateralización de la cabeza. 316

Figura 132: Secuencia temporal de la ecografía renal en la misma región en intervalos de 30-40 minutos de la tortuga olivácea capturada en Brasil. Se puede apreciar el incremento de gas patológico en la región a medida que pasa el tiempo. Vena porta renal en sección transversal (flecha). Acúmulos de gas en parénquima renal que generan una imagen hiperecogénica (asteriscos). A) Grado de embolismo leve a los 20 minutos aproximadamente de haber salido a superficie. B) Embolismo moderado: la cantidad y distribución del gas en vasos y parénquima es mayor. C) Embolismo severo: gran cantidad de gas infiltrado en el tejido impidiendo la correcta visualización ecográfica. Este animal terminó muriendo y los hallazgos se pudieron confirmar en necropsia. Fuente: (Crespo-Picazo et al., 2020). 318

Figura 133: Macho adulto de tortuga boba capturado en Italia que murió a bordo tras recuperarse comatoso del aparejo. En esta ocasión a diferencia de los animales que causaron baja en Brasil, no se pudo llevar a cabo la necropsia porque la logística a bordo del barco no lo permitía. 319

Figura 134: Tres tortugas ya marcadas durante el curado de la resina epoxi ya listas para ser liberadas de vuelta al mar 320

Figura 135: Tortugas ya marcadas libres en cubierta mientras continua el arrastre esperando a ser liberadas. 320

Figura 136: Ultima posición enviada a través de los satélites Argos por los emisores colocados en Italia en el momento en que se liberaron de las tortugas marcadas. Nótese que algunos emisores marcan posición en tierra y esto se puede deber a la falta de precisión del satélite con este sistema (la precisión en cuanto a la posición GPS es muy superior) y/o a la recogida de las marcas por pescadores o público

general. Los recuadros en amarillo indican marcas recuperadas por público presente en la zona y mantenidas en tierra. 321

Figura 137: Tortuga recuperada ya muerta de las redes con signos de descomposición moderada, hinchada y con pérdida de escudos de la zona de la cabeza. 322

Figura 138: Examen ecográfico a bordo del ejemplar de tortuga laúd capturado accidentalmente por redes de arrastre en aguas de la Comunidad Valenciana donde se pudo comprobar la presencia de burbujas de gas en la vasculatura renal. Nótese la presencia de algunas abrasiones superficiales en aletas y caparazón. 336

Figura 139: Gráficos mostrando la frecuencia cardiaca de algunas de las tortugas inmovilizadas sometidas a compresión descompresión a lo largo del tiempo durante uno de los experimentos de Berkson. Los picos de frecuencia que rompen la bradicardia de buceo (flechas) se corresponden con momentos en los que los animales forcejeaban intentando moverse. Fuente: (Berkson, 1967). 363

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACC	Ancho del caparazón en curvo
ACh	Acetilcolina
ADL	Límite de buceo aeróbico (Aerobic Dive Limit)
ALKP	Fosfatasa alcalina
ALT	Alanin-amino-transfersa
AST	Aspartato-amino-transferasa
Asp	Aspiración de agua
ATA	Atmósferas absolutas
ATM	Atmosferas relativas (por encima de la presión atmosférica a nivel del mar)
BilD	Bilirrubina directa
BilT	Bilirrubina total
BRDs	Dispositivos para la Reducción de las Capturas Accidentales (Bycatch Reduction Devices)
BREP	Bycatch Reduction Engineering Program
BUN	Nitrógeno ureico en sangre
BW	Peso corporal por sus siglas en inglés
Ca	Calcio
cADL	Límite de buceo aeróbico calculado (Calculated Aerobic Dive Limit)
CC	Craneo-caudal (proyección radiológica)
CCBA	Comité de Cuidado y Bienestar Animal

CID	Coagulación intravascular diseminada
CITES	Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres
CK	Creatin-kinasa
Cl	Cloro
CO_2	Dióxido de carbono
CR	Centro de recuperación
CREA	Creatinina
DCS	Enfermedad descompresiva (Decompression sickness)
DV	Dorso- ventral (proyección radiológica)
ECG	Electrocardiograma
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EG	Embolismo gaseoso
Epi	Epinefrina
Fe	Hierro
GGT	Gamma-glutamil-transferasa
GV26	Acupunto Vaso Gobernador 26
H&E	Hematoxilina y Eosina
Hb	Hemoglobina
HBOT	Terapia con oxígeno hiperbárico
HCl	Ácido Clorhídrico
Hcto	Hematocrito
IUCN	International Union for Conservation of Nature
IUSA	Instituto Universitario de Sanidad Animal

IM	Vía Intramuscular
IV	Vía Intravenosa
K	Potasio
L	Izquierda (left)
LCC	Longitud en curvo del caparazón
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LDH	Lactato deshidrogenasa
LL	Latero- lateral (proyección radiológica)
logMb	Logaritmo decimal del peso metabólico
LP	Parénquima pulmonar
LRC	Longitud en recto del caparazón
MHz	Mega-hercios
MTCF	Marine Turtle Conservation Fund
N_2	Nitrógeno
Na	Sodio
NaHCO3:	Bicarbonato sódico
NMFS	National Marine Fisheries Service (NOAA, USA)
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration (USA)
O_2	Oxígeno
OMBs	Microburbujas de Oxígeno
P	Fósforo
Pa	Presión arterial
PBS	Tampón fosfato salino
pCO_2	Presión parcial de dióxido de carbono

pO_2	Presión parcial de oxígeno
Pv	Presión venosa
Q_	Perfusión
R	Derecha (right)
RBC	Recuento de glóbulos rojos
RMN	Resonancia magnética
RMUs	Unidades de gestión regional
SC	Vía subcutánea
SEM	Error Estándar de la media
SNA	Sistema nervioso autónomo
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico

AGRADECIMIENTOS

Quiero que mis primeras palabras de agradecimiento vayan dirigidas a mis dos directores de tesis, los Profesores Dr. José Manuel Sánchez-Vizcaíno y Dr. Antonio Fernández, compañeros de profesión a los que admiro, pero ante todo buenos amigos. Ambos son y seguirán siendo veterinarios de gran relevancia internacional, grandes referentes en mi carrera profesional, primeras espadas en sus respectivos campos de estudio, pero sobre todo grandes referentes a título personal por su enorme calidad humana. Sin el importante apoyo inicial del Prof. José Manuel Sánchez Vizcaíno para entre otras muchas cosas potenciar el centro de recuperación del Oceanográfic y la línea de trabajo de Sanidad Marina desde el 2010, el presente trabajo nunca hubiese sido posible. Agradecer también al Prof. Dr. José Manuel Sánchez Vizcaíno y a su grupo VISAVET-SUAT de la UCM y al Prof. Dr. Antonio Fernández y al IUSA de la ULPGC (con especial cariño y reconocimiento en este caso hacia el Prof. Dr. Manolo Arbelo y la Dra. Yara Bernaldo), todo el apoyo diagnóstico y asesoramiento profesional que me han ofrecido durante todos estos años. Gracias por la confianza que siempre habéis depositado en mí, así como por la ayuda, orientación y compromiso que una vez más me habéis prestado en la dirección de esta tesis.

Sin lugar a duda las siguientes palabras de agradecimiento en referencia a la consecución de este trabajo se las debo a mi colega y amigo José Luis Crespo; Veterinario Responsable del Área de Conservación de la Fundación Oceanogràfic y Centro de Recuperación de Especies Marinas (Arca del Mar), en la que trabajamos juntos desde 2010 y a la que se unió nuestro compañero Vicente Marco en 2016, también aportando un enorme valor a los contenidos aquí presentados. Gracias de corazón a los dos pues sin vuestro trabajo diario y enorme esfuerzo, compromiso y devoción por los animales y el proyecto, nada de esto hubiese sido posible.

Fundamental ha sido también el apoyo recibido por el resto de equipo de veterinarios del Oceanográfic, Teresa y Mónica ambas compañeras desde 2002, de muchas fatigas que supimos resolver juntos y más recientemente con la incorporación de Carlos Rojo en 2017, un gran impulsor actualmente para conseguir la excelencia en el servicio veterinario de nuestro querido Oceanográfic. Es un verdadero privilegio trabajar a vuestro lado en el equipo de veterinarios del centro.

Gracias por supuesto también a mis compañeros que actualmente me acompañan en la gestión diaria al frente de la Dirección de Operaciones Zoológicas, Carlos Barros (mi mano derecha y buen amigo que

siempre está para apoyarme en los momentos más duros), Beatriz Domínguez, Carlos Taurá, Mario Roche y muy especialmente a Javier León como responsable de control de gestión del área biológica de CACSA y con el que también vengo trabajando los 18 últimos años, los cuales nos han llevado a fraguar una profunda amistad. Gracias de veras Javier, hermano en valencia, por tu cariño, respeto y sobre todo confianza durante todos estos años. Habéis sido todos fuente de apoyo e inspiración fundamental en el impulso para sacar adelante esta Tesis Doctoral.

El trabajo que aquí presento es a nivel general, uno de los principales frutos de mi carrera profesional hasta el momento, desde un principio orientada no solo a la resolución de casos clínicos, sino al avance en múltiples aspectos del conocimiento en medicina de fauna salvaje. Este proyecto en particular es prácticamente un recopilatorio de un intenso trabajo en equipo durante los 10 últimos años de mi vida.

Son muchísimas las personas que me han ayudado, apoyado y prestado su cariño para traerme hasta aquí. Aunque no podré mencionar a todas y pido disculpas de antemano por ello, sí me gustaría mencionar algunas de ellas que creyeron en mí o me ayudaron especialmente y a las que nunca tuve la oportunidad de ofrecerles un reconocimiento público.

Mi primera oportunidad para introducirme en el mundo de la medicina de fauna salvaje se la debo sin duda alguna a Danny Stockman, mi “padre americano” e íntimo amigo de mi padre. Danny me consiguió mis primeras prácticas en un zoo (cuando yo estaba en 3º de carrera), con la veterinaria del Miami Metro Zoo y me acogió en su casa de Florida como a su propio hijo desde el primer día. Un cáncer se lo llevó por delante hace unos años siendo aun bastante joven. Fue una persona excepcional y absolutamente implicada con mi causa. Me demostró que todos los sueños son plenamente alcanzables si se lucha lo suficiente y siempre creyó en mí y en mis posibilidades más que yo mismo. Estoy segurísimo de que hoy estará orgulloso de este trabajo allá donde esté.

De las estancias en USA, ya pasé al Zoo de Madrid del que también guardo un bonito recuerdo. Gracias a todos profesionales y amigos del Zoo de Madrid (muy especialmente a Eva Martínez con la que aprendí mucho y viví momentos inolvidables), de Selwo (con mis queridos Leandro y Santiago) y de Valwo (con mi buena amiga Rocío Canales) que me formaron y me permitieron seguir creciendo.

De Valwo di el salto al Oceanográfic. Doy gracias cada día a los que con 24 años confiaron en mí para liderar el área de veterinaria del mayor acuario de Europa y uno de los mayores del mundo, tanto por parte de Parques Reunidos como por CACSA, y muy especialmente a Pablo, a Miguel y a Juanjo. Con su apoyo pude ir además a cumplir mi sueño y formarme con los mejores en Sea World San Diego

(California) donde desde un principio además de la formación y el conocimiento pude recibir el cariño y afecto de todo el equipo de veterinarios y sobre todo de Brad Andrews desde la dirección zoológica corporativa del grupo. Nunca podré agradecer a Sea World y en particular al Brad la ayuda y apoyo recibidos a lo largo de toda mi carrera profesional. Ciertamente, fue el equipo del Oceanogràfic en el que ingresé recién licenciado y que me vio nacer profesionalmente, el que me ha fraguado a lo largo de estas casi 2 décadas. La lista de agradecimientos para las personas de esta casa que me apoyaron, confiaron en mí y me quisieron dar esta preciosa oportunidad y compleja responsabilidad se haría inagotable. Gracias a todos de corazón.

Y sobre todo también mi gratitud va dirigida a los que en esta segunda etapa han decidido seguir apostando por mí para liderar junto con mi equipo, la gestión biológica, científica y técnica del Oceanográfic y también ahora a la nueva Fundación Oceanogràfic. Gracias a la Dirección General con Eduardo y Kadia a la cabeza, y a la Presidenta y Consejera Celia y Mercedes Calabuig por vuestra amistad y por el apoyo y confianza recibidos desde un principio. Todos sois desde luego acreedores de una parte muy importante de lo que soy y de los posibles hitos que pudiera conseguir en mi trayectoria profesional entre los que se encuentra la ejecución del presente trabajo de Tesis Doctoral. Gracias también a ti Juan Antonio como amigo y consultor, por estar ahí para apoyarnos con una visión más amplia siempre que te necesitamos.

No quiero dejarme a nadie atrás de la “familia Oceanográfica” con la que durante tantos años he compartido sangre sudor y lágrimas. Gracias a todos mis compañeros del equipo de biología, del área de Fundación y resto de departamentos de una institución que siento más que mi casa, mi tesoro. En este sentido no puedo dejar pasar el inestimable apoyo y la referencia personal que supone también para mí el Dr. Francisco Torner, Paco, como director de Control de Gestión de CAC.SA. Una persona a la que el proyecto del Oceanográfic y yo mismo le debemos mucho y muchas veces. Gracias también a todos los voluntarios, estudiantes y trabajadores que de forma altruista se comprometen mucho más allá de lo que exige el guión, con esta y muchas otras actividades con el fin de promocionar la conservación del medio marino y de los que aprendí y sigo aprendiendo cada día: Jordi, Teresa, Chelo, Pablo, Dani… y muchos otros que harían el listado interminable.

Destacar que la financiación y recursos necesarios para la consecución de este trabajo a partir de los casos atendidos en el centro de recuperación, ha procedido íntegramente del Oceanográfic (a través de los fondos e infraestructuras de Ciudad de la Artes y las Ciencias S.A., de Parques Reunidos Valencia S.A y de Avanqua_Oceanográfic S.L) y a partir del año 2016, también de la Fundación Oceanográfic de

la Comunitat Valenciana. Asimismo, los trabajos a bordo de buques pesqueros en aguas de Brasil e Italia se pudieron realizar gracias a la financiación externa recibida desde USA a través del Bycatch Reduction Engineering Program (BREP) de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) y del Marine Turtle Conservation Fund (MTCF) de la United States Fish and Wildlife Services (USFWS) respectivamente. Gracias también a Pfizer Animal Health y muy especialmente al que fue su Director General y actualmente buen amigo, Juan Carlos Castillejo, por todo el apoyo recibido en el programa de Sanidad Marina allá por el 2010. Esta ayuda fue el germen del actual equipo de recuperación y permitió dar un impulso muy importante en la profesionalización del personal y del centro. Más recientemente, agradecer también a ZOETIS España por la provisión de equipos de diagnóstico clínico de última generación, los cuales han permitido la mejora asistencial en la atención a los animales varados vivos y enfermos en nuestras costas. Gracias a todas las instituciones previamente mencionadas por su contribución económica y apoyo logístico para hacer posible el presente trabajo.

He de agradecer también muchas cosas y en gran medida el alcance de este trabajo al Dr. Andreas Fahlman, un investigador y ahora también amigo cuyo descubrimiento supuso un antes y un después para mi vida profesional y que ha conseguido verdaderamente despertar en mí de forma dramática la necesidad de estudio por la fisiología del buceo y las diferentes adaptaciones asociadas en las diferentes especies de vertebrados que mantenemos en al acuario. Gracias de verdad Andreas por compartir tu visión y tu amistad. ¡Nos esperan muchas discusiones de vino y paella por delante!

En mi periplo valenciano ya fuera del ámbito más puramente laboral pero sí como singular referente profesional y colaborador del Oceanográfic, el Prof. Dr. Luis Martí, al que quiero y admiro enormemente. Otro de los grandes referentes de la ciencia en España y referente mundial en imagen médica con el que tengo el privilegio de compartir momentos de discusión e iluminación y sobre todo una profunda amistad. Luis, junto con José Manuel, han sido y serán siempre mentores muy especiales en mi vida, probablemente más de lo que ellos nunca lleguen a imaginar. Muchas gracias también Luis por ayudarme en hacer que esta Tesis sea una realidad tanto por tu apoyo en todo lo referente a la parte más formal del trabajo en el ámbito de la radiología con las tortugas, como por tu orientación estratégica junto a mis directores. Dar también las gracias al equipo de Luis en el Instituto de Investigación Sanitaria y el Hospital Universitario la Fe por el apoyo recibido en el análisis de las imágenes y de los datos presentados en esta tesis. Del mundo de la academia médica valenciana, agradecer sin duda también el tiempo y el apoyo prestado desde la Universidad de Valencia a Julio, a

José Luis, a Esteban y a Ezequiel con los que la colaboración científica también ha fructificado en cariño y amistad. Gracias también al apoyo recibido desde la Facultad de Biológicas y el Instituto Cavanilles de la Universidad de Valencia. Y gracias también al apoyo recibido desde la facultad de veterinaria de la UCH_CEU, donde hice los cursos de doctorado y desde donde también mantenemos una buena colaboración científica especialmente fructífera en el área de anatomía patológica con Juanma y Joaquín al frente. Gracias también a Vicente del Hospital Valencia Sur por todo su apoyo con las técnicas de diagnóstico por imagen con las tortugas.

En el ámbito de la administración valenciana y muy especialmente para la posible consecución del presente trabajo con tortugas marinas, no quería dejar de agradecer al Servicio de Vida Silvestre de la Consellería de Medio Ambiente de la Generalitat Valenciana, todo el apoyo y ayuda prestada en poder sacar adelante este proyecto. Muy especialmente quería reconocer en este sentido la labor del Dr. Juan Jiménez, de Juan Antonio Gómez y de Juan Eymar. Gracias al primero conseguimos las pertinentes autorizaciones para trabajar con las tortugas en Comunidad Valenciana. Además, los 3 contribuyeron a la consecución de muchas de las acciones de las que también depende este proyecto, como es el trabajo con pescadores, dando un enorme salto cualitativo desde 2011.

Gracias a todo el resto de mis amigos valencianos y no valencianos pero que he conocido aquí, que me han recibido y acogido con los brazos abiertos y me han ayudado a ser mejor persona en esta tierra a la que ahora tanto estimo: Eugenia, Alejo, Raúl, Fernando, Stefan, Javier, Vanesa, etc… la lista se haría interminable si tuviese que enumerarlos a todos…

Gracias también a esta Universidad Complutense de Madrid donde ahora presento mi trabajo, por la ayuda ofrecida, el conocimiento aportado y los buenos momentos vividos a lo largo de mi carrera como estudiante y como veterinario. Esta es la Universidad que me vio nacer profesionalmente y me dio la oportunidad de formarme como veterinario, ofreciéndome al final de mis estudios de licenciatura su máximo reconocimiento y distinción como estudiante con el Premio Extraordinario Complutense al mejor expediente académico en el ámbito Biosanitario. Llevaré siempre a la UCM en mi corazón pues aquí viví de los momentos más felices de mi vida y gracias a ella llené mi mochila de herramientas de supervivencia como veterinario y como persona. A sus profesores los recuerdo con enorme cariño: Teresa, Julio, Pilar, Elisia, Ángel, Fernando, Luis, Marta, Manolo, María y muchos más que harían esta lista interminable. La Prof. Dra. Teresa Encinas a la que profeso un enorme cariño, sigue siendo desde que acabé la carrera, una colaboradora científica vital en el Oceanográfic y una gran amiga y guía espiritual a nivel personal. Agradecer también el apoyo recibido por mis compañeros y sobre todo

compañeras de promoción con los que pasé momentos inolvidables aprendiendo muchísimo a su lado y siendo un apoyo crucial para mí en muchos momentos como Neli, Merche, Marisa, Mila, Rebe, Saritísima, María, Isa, Irene, Guille, Jorge, Almu, Lino… entre muchos otros. En este sentido me gustaría recordar muy especialmente a mi compañero y amigo Miguel Rodríguez Castaño que ya no está con nosotros pero que siempre mantendré en el recuerdo por su calidad personal y por las risas y los buenos ratos que pasamos juntos durante nuestros primeros años en nuestra querida facultad de veterinaria y fuera de ella. Un abrazo muy fuerte también para sus padres la Prof. Dra. María Castaño y el Prof. Dr. Manuel Rodríguez, también profesores míos de los que recibí gran apoyo y consejo y a los que recuerdo con cariño.

Agradecer también de una forma amplia a todos aquellos profesionales y compañeros, nacionales e internacionales con los que he tenido la ocasión de charlar, discutir y sobre todo aprender para poder avanzar en el campo de la medicina de los animales acuáticos en general y de tortugas en particular, y a los que actualmente con muchos me une una profunda amistad: Sally, Baptiste, Flan, Tania, Manuel, Ignacio J, Ignacio G, Geraldine, Todd R, Guille, Rocío, Ani, Carolina, Estibaliz, Mari Luz, Craig, Brian, Nicole, Alex, Micah, Nathan, Angel, Roberto, Mario, Xavi, Oriol, Clara, etc. A todos ellos y a un sin fin de personas más que han aportado con su apoyo cotidiano, visión, ayuda, conocimiento y amistad a la elaboración esté y muchos otros trabajos a lo largo de mi carrera.

Gracias a todas aquellas personas que seguro me ayudaron publica o anónimamente y no he podido llegar a mencionar aquí. Soy plenamente consciente de que uno solo no va a ningún sitio, pero probablemente no lo sea de toda la ayuda recibida desde muchos de vosotros. Gracias en todo caso.

Aprovechar también para agradecer a todo el colectivo de pescadores que colaboran con el Oceanográfic en la recuperación de las tortugas. También a los pescadores de Italia y Brasil y a las ONGs locales con los que pudimos llevar a cabo los estudios a bordo. Sin ellos el descubrimiento de esta enfermedad y desde luego este trabajo hubiese sido imposible. Gracias muy especialmente también a mi compañera veterinaria Mari Luz Parga y a la colaboradora Daniela Monteiro quienes se embarcaron en Brasil aportando una parte de información relevante para completar esta Tesis.

Por ultimo y no por ello menos importante, sino más bien al contrario, también quiero dar las gracias a mi familia. En primer lugar, siento una gratitud infinita hacia a mis padres Miguel y Maribel por su generosidad y saber hacer, habiéndome dado las mejores armas e inculcado los valores fundamentales para desenvolverme con éxito como profesional y como persona en el S.XIX. Mi madre una de las personas más fuertes y luchadoras que haya podido conocer. Una verdadera matriarca, defensora a

ultranza de lo justo y de los suyos. Referente familiar en todos los momentos más duros y difíciles. Mi padre una de las personas más bellas, buenas, equilibradas y pacientes que haya podido conocer, con un sentido del humor sensacional. Trabajadores infatigables para darnos a mi hermano y a mí lo que ellos nunca pudieron tener. Gracias a mi hermano Marcos por su cariño, sus referencias y su consejo espiritual. Gracias también a mis tías Paloma y Mercedes, segundas madres, por cuidarnos y mimarnos tanto, por aportar siempre el criterio y racionalidad necesaria a las cosas, por su generosidad e ímpetu para ofrecernos siempre lo que de otro modo nunca hubiésemos podido tener. Ambas han sido siempre importantes referentes para mí desde la infancia en el mundo biosanitario tanto en el laboratorio de calidad alimentaria de Panrico como en el Hospital Clínico San Carlos. No quería tampoco dejar de agradecer de algún modo su parte de mi a mis 4 abuelos Carmen, Antoñita, Eugenio y Rafael, todos lamentablemente ya fallecidos, 3 de ellos cuando yo aún era un niño, pero a los que aún recuerdo con enorme cariño, y de los que sigo sintiendo su apoyo y estoy seguro estarán orgullosos de este trabajo.

Gracias a mi familia valenciana: Carmen, Luis, Paco, Mar, Lola, Laura, Alex, Marta, Carlota, Martín y Alma por vuestro cariño y por acogerme como uno más de los vuestros desde el primer día que entré en casa de la mano de la que hoy es mi mujer, Ana.

Y ante todo gracias a ellas, lo que más quiero en el mundo, mi mujer Ana y mis dos niñas Lucía y Anita que me dan la fuerza diaria que necesito para seguir luchando y reinventándome cada día, verdaderamente conformando el sentido de mi vida. Gracias por dejarme sentir cada día este amor paternal inexplicable y el valor fundamental de la familia en su más pura esencia como fuente inagotable de energía y emoción vital. Mi especial gratitud por vuestra paciencia, apoyo y comprensión en mi dedicación e ilusión hacia mi profesión y muy especialmente en los momentos más duros y demandantes que ha supuesto este trabajo. No ha sido fácil la travesía, pero aquí estoy, gracias a mis 3 princesas.

No quiero terminar este capítulo sin hacer referencia a este "*2020 Anuus horribilis*" por el que todos hemos tenido que transitar, con un padecimiento e incertidumbre inusitados en el trabajo, la familia, los amigos… perdiendo en ella a algunos insignes familiares tan queridos como mi tía Justi o mi tío Jesús, sin poderlos siquiera despedir en el calor de la familia…

Pero por cerrar sacando siempre el lado positivo de las cosas, esta pandemia he de reconocer que me ha facilitado poder disfrutar en casa mucho más de mi familia de lo que el trabajo y mi profesión en condiciones normales me hubiesen permitido, a pesar de los múltiples momentos duros vividos. Esta

cruel y despiadada pandemia creo que nos ha enseñado y hecho reflexionar a todos. Y quizá también nos ha dado nuevas oportunidades a todos. A mí al menos también me sirvió de acicate para llegar a concluir este ansiado trabajo de Tesis Doctoral, por tanto, tiempo deseado, pero para el que nunca existía el momento apropiado…

“El sabio siempre gana, porque no compite. No acumula. Cuanto más ayuda a los demás, más se beneficia el mismo. Cuanto más da a los demás, más obtiene el mismo.”

LAO TSE



RESUMEN/ ABSTRACT

I- RESUMEN

La enfermedad descompresiva (DCS), diagnosticada clínicamente mediante la reversión de los síntomas tras el tratamiento de recompresión, no habido sido nunca antes reportada en vertebrados buceadores en apnea, a pesar de la previsible aparición en sus tejidos de tensiones de gas suficientemente elevadas como para dar lugar a la formación de burbujas y lesiones en base a los estudios en modelos experimentales terrestres. En mamíferos marinos, han sido descritas lesiones compatibles con DCS en estudios *post mortem*, en casos en los que se presupone una alteración del comportamiento de buceo como consecuencia de la exposición a fuentes acústicas submarinas de alta potencia (por ejemplo, el sonar militar activo) y en casos de animales atrapados accidentalmente a profundidad en pesquerías. En las tortugas marinas, a pesar de la abundante literatura sobre la fisiología del buceo y los trabajos sobre la disrupción que causa en los animales las capturas accidentales, este es el primer reporte de embolismo gaseoso (EG) y DCS en este grupo. El presente trabajo de Tesis Doctoral es el recopilatorio más completo existente hasta el momento sobre la enfermedad en cualquier vertebrado buceador: se aportan las evidencias de su existencia incluyendo los síntomas y lesiones asociadas, se describen las opciones diagnósticas y terapéuticas y se facilitan datos preliminares sobre el impacto de la enfermedad en el entorno clínico de un centro de recuperación (CR), así como en condiciones de campo a bordo de buques pesqueros. El estudio compendia por primera vez la información relativa a esta nueva entidad clínico-patológica en base a más de 300 tortugas bobas (*Caretta caretta)* afectadas, así como de ejemplares aislados de tortuga verde *(Chelonia mydas),* tortuga olivácea *(Lepidochelys olivacea)* y tortuga laúd *(Dermochelys coriácea).* El trabajo parte de un total de 497 casos recuperados de pesca accidental en redes de arrastre y enmalle de pesquerías de la Comunidad Valenciana, así como en arrastreros de Brasil e Italia, estudiando la presencia de enfermedad y su impacto en los animales tanto a la llegada al CR como en su fase temprana a bordo de buques pesqueros. La severidad del embolismo, así como la caracterización de las lesiones asociadas en órganos vitales se han podido evaluar en los diferentes trabajos compendiados a través de la radiografía convencional, tomografía axial computarizada, resonancia magnética, ecografía y el examen post mortem. En estos últimos, el EG ha sido también confirmado y caracterizado de forma muy similar a la que se describe en los cetáceos sospechosos de sufrir EG asociado a la descompresión. Las tasas de incidencia de EG fueron del 57% a la llegada al CR y del 100% inmediatamente tras la captura en arrastre de fondo. Aportamos evidencias de que algunos

factores ambientales como la temperatura del agua, la profundidad o los tiempos de calado de las redes se correlacionan con la mortalidad de las tortugas capturadas accidentalmente. Asimismo, el tipo de pesquería (arrastre/trasmallo), la aspiración de agua de mar, la severidad del redes a bordo de buques pesqueros, también condicionan la supervivencia. Por otro lado, la severidad del embolismo sufrido en animales recibidos en el CR se asoció al tipo de pesquería, la profundidad del arte, la presencia de aspiración de agua de mar y el tamaño de la tortuga (LCC y peso). En el CR, la mortalidad (incluyendo los que ingresan ya muertos) asociada a los casos de embolismo (28,91%) fue prácticamente 8 veces superior a la mortalidad en el grupo de los no afectados por la enfermedad (3,76%). Sin embargo, la tasa de supervivencia de los animales afectados que llegaron vivos y pudieron ser tratados mediante terapia específica con oxígeno hiperbárico (HBOT) superó el 90%. En los estudios a bordo de buques pesqueros, la mortalidad total a 30 días se situó entre el 44% y el 63%. La supervivencia de los animales que estando en buena condición pudieron ser marcados y devueltos vivos directamente al mar (excluyendo los ejemplares que murieron a bordo) fue del 63,88%, lo que implicaría la muerte de 1 de cada 3 reintroducciones directas.

El descubrimiento de la DCS en tortugas marinas abre una nueva era para la investigación en fisiología del buceo no solo en las tortugas sino también en otros vertebrados buceadores, planteando nuevas hipótesis o modelos potencialmente aplicables a otros grupos de vertebrados pulmonados incluyendo la especie humana y otros vertebrados marinos buceadores. Además, exige revisar y replantear nuevas estrategias de mitigación de la mortalidad asociada a corto, medio y largo plazo con la captura accidental para minimizar el impacto de las pesquerías sobre las poblaciones de tortugas, favoreciendo su conservación.

I- ABSTRACT

Decompression sickness (DCS), clinically diagnosed by reversal of symptoms after recompression treatment, has never been reported in breath hold divers, despite the predictable occurrence in their tissues when nitrogen stresses high enough to lead to bubble formation and lesions based on studies in terrestrial experimental models. In marine mammals, lesions compatible with DCS were described in post mortem studies, in cases where altered diving behavior is assumed because of exposure to high-powered underwater acoustic sources (e.g., active military sonar) and in cases of animals accidentally caught at depth in fisheries. In sea turtles, despite the abundant literature on diving physiology and work on the disruption caused to animals by accidental capture, this is the first report of gas embolism (GE) and DCS in this group. This Thesis is the most comprehensive compilation to date of the disease in any diving vertebrate: it provides evidence of its existence including associated symptoms and lesions, describes diagnostic and therapeutic options, and provides preliminary data on the impact of the disease in the clinical setting of a recovery center as well as under field conditions on board fishing vessels. The study compiles for the first-time information on this new clinic-pathological entity based on more than 300 affected loggerhead turtles (*Caretta caretta*) as well as isolated specimens of green turtle (*Chelonia mydas*), olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) and leatherback turtle (*Dermochelys coriacea*). The work is based on the study of a total of 497 cases recovered from fishing trawls and gillnets in the Valencian Community, as well as in trawlers in Brazil and Italy, studying the presence of the disease and its impact on the animals both on arrival at the recovery center and in its early phase while on board. The severity of the embolism, as well as the characterization of the associated lesions in vital organs have been assessed in the different studies by conventional radiography, computed axial tomography, magnetic resonance imaging, ultrasound, and post mortem examination. In the latter, gas embolism has also been confirmed and characterized in a manner very similar to that described in cetaceans suspected of decompression-associated GE. The incidence of GE was 57% on arrival at the CR and 100% immediately after bottom trawl capture. We provide evidence that environmental factors such as water temperature, depth and net setting times correlate with the mortality of turtles caught accidentally. Likewise, the type of fishery (trawl/gillnet), the presence of seawater aspiration, the severity of the embolism, or the level of consciousness in the first neurological examination after recovery from nets on board, also condition survival. On the other hand, the severity of the embolism suffered in animals received at the recovery center was associated

with the type of fishery, the depth of the gear, the presence of seawater aspiration and the size of the turtle (CCL and weight). At the recovery center, the overall mortality (including those admitted dead) associated with embolism cases (28.91%) was almost 8 times higher than mortality in the non-embolism group (3.76%). However, the survival rate of affected animals that arrived alive and could be treated by specific hyperbaric oxygen therapy (HBOT) exceeded 90%. In surveys on board fishing vessels, total 30-day mortality ranged from 44% to 63%. Survival of animals in good condition that could be tagged and released back (excluding those that died on board) was 63.88%, which would imply 1 in 3 direct reintroductions.

The discovery of DCS in sea turtles opens a new era for research in diving physiology not only in turtles but also in other diving vertebrates, raising new hypotheses or models potentially applicable to other groups of pulmonates including humans and other diving marine vertebrates. In addition, it calls for reviewing and rethinking new strategies to mitigate the mortality associated in the short, medium, and long term with bycatch in order to mitigate the impact of fisheries on turtle populations, favoring their conservation.



INTRODUCCIÓN

II- INTRODUCCIÓN

El equipo veterinario del Oceanográfic de Valencia del que soy responsable desde 2002, trabaja atendiendo no solo a las especies mantenidas en el propio acuario, sino que desde 2007, a través de un acuerdo de colaboración con la Consellería de Agricultura y Medio Ambiente, nos encargamos también de la atención veterinaria de los varamientos de cetáceos, tortugas marinas y elasmobranquios que llegan vivos a las costas de la Comunidad Valenciana.

Adicionalmente, y muy especialmente a raíz del lanzamiento de una campaña de concienciación dirigida a los pescadores que se realizó en 2010, nuestro centro empezó a prestar asistencia para la recuperación y reintroducción a un gran número de tortugas marinas que nos eran entregadas tras ser capturadas accidentalmente por barcos pesqueros (arrastreros y trasmalleros) a lo largo de toda la comunidad autónoma. Durante los primeros años, unos pocos pescadores nos entregaban solamente aquellos animales que ellos percibían heridos o debilitados. Sin embargo, desde 2010, con el fin de poder llegar a evaluar clínicamente e identificar individualmente a una mayor parte de la población, se decidió solicitar a la comunidad pesquera que colaborasen trayendo a puerto todas las tortugas que capturasen durante la jornada independientemente de que pareciesen muertas, débiles/heridas o que no presentasen signos aparentes de enfermedad. Se instalaron cubas rotuladas para facilitar la recogida en las diferentes cofradías de la Comunidad Valenciana y se realizaron diferentes jornadas formativas para incentivar a los pescadores a entregar el máximo número de capturas. Esto llevó a incrementar muy notablemente la participación de la comunidad pesquera y el número de animales entregados cada año en nuestro centro de recuperación (CR), factor determinante en la consecución de este trabajo.

De forma paralela, a lo largo de estos años, el Oceanográfic fue dotándose de un equipo veterinario cada vez más numeroso y mejor formado en el ámbito de la recuperación de especies marinas. Adicionalmente fuimos adquiriendo medios diagnósticos y terapéuticos de primer nivel, en un principio con el fin de mejorar la atención de los animales del acuario, pero manteniéndose a disposición de las necesidades del CR. En este contexto, pudimos observar lo que se describía en la mayoría de los trabajos internacionales asociados a la recuperación de tortugas marinas capturadas accidentalmente en pesquerías: algunas de las tortugas que salían comatosas o incluso aparentemente muertas (ahogadas) de las redes tras la inmersión forzada, se iban recuperando sin tratamiento veterinario específico a medida que pasaban tiempo en superficie o eran recuperables con el

tratamiento médico necesario al llegar al CR, mientras que un segundo grupo de animales se mantenían aparentemente sanos desde un principio y en todo momento.

Sin embargo, el presente trabajo y la primera descripción de la enfermedad descompresiva en estas especies surge de forma prácticamente accidental en busca de respuesta a un cuadro clínico concreto. Se identificó una tercera categoría de tortugas que desde un primer momento fue desconcertante ya que, en base al conocimiento del momento, no se era capaz de explicar su evolución clínica. Se trataba de tortugas enérgicas y activas al ser recuperadas de las redes, según la información aportada por el pescador, pero que horas después, cuando llegaban al CR mostraban sintomatología neurológica o se encontraban ya en estado estuporoso o comatoso llegando incluso a morir. En base al conocimiento disponible y a la literatura científica del momento sobre medicina de tortugas marinas y los efectos de la inmersión forzada en estas especies, no se describían procesos por los que un animal recuperado del aparejo de pesca en buenas condiciones se pudiese deteriorar de forma rápida tras pasar tiempo en superficie. Todo lo contrario. La recomendación habitual en la mayoría de los manuales para pescadores en caso de animales debilitados tras una inmersión forzada, es la de mantener a las tortugas en superficie un tiempo prudencial hasta que pudieran re-oxigenarse y recuperarse al menos parcialmente antes de su devolución al mar (Epperly et al., 2004; Gerosa and Aureggi, 2005; Gilman et al., 2009; Stokes and Bergmann, 2019). Las tortugas que presentaban esta evolución inesperadamente desfavorable al pasar tiempo fuera del agua mostraban además signos clínicos nunca descritos en las tortugas, como patrones radiológicos extraños con reducción drástica del campo pulmonar y angiogramas de gas intravascular. Ecográficamente se podían observar imágenes compatibles con la presencia de gas intravascular y burbujas dispersas en diferentes tejidos, que se corroboraba en la extracción sanguínea de la que con frecuencia se obtenía sangre con gran cantidad de burbujas formando una espuma en la jeringa tras la venipunción, así como con la observación de presencia de gas intravascular en gran cantidad de vasos y en las cámaras cardiacas en los exámenes post mortem.

Éstos y muchos otros hallazgos descritos a lo largo de este trabajo, fueron los que nos llevaron a pensar que nos encontrábamos ante casos de embolismo gaseoso y presumiblemente de una enfermedad descompresiva asociada. Dada su experiencia con casos similares de embolismo gaseoso en cetáceos en asociación con fenómenos descompresivos. El apoyo diagnóstico recibido desde el IUSA de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria, especialmente en la anatomía patológica de las lesiones y el análisis de la composición del gas de las burbujas intravasculares fue fundamental para progresar con los primeros casos de diagnóstico presuntivo de enfermedad descompresiva (DCS) en tortugas. El

diagnóstico definitivo llegó cuando fue posible demostrar mediante la recompresión en cámara hiperbárica, que tortugas pescadas accidentalmente y sometidas a un fenómeno descompresivo al ser sacadas a superficie, desarrollaban sintomatología clínica neurológica y se veían afectadas con embolismo gaseoso y ambos (tanto el gas intravascular como la sintomatología clínica) remitían tras la recompresión con oxígeno hiperbárico. Entendemos que algunos aspectos que discutiremos más adelante en el presente trabajo han jugado a nuestro favor haciendo que seamos el primer equipo a nivel mundial que ha detectado y descrito la aparición de dicha enfermedad. Sin embargo, hoy en día, continúan siendo una incógnita los motivos por los que la DCS no había sido diagnosticada antes por los diversos grupos de investigación internacionales (principalmente estadounidenses) que trabajan desde hace muchos años con tortugas marinas capturadas accidentalmente.

En este contexto se decidió llevar a cabo el presente trabajo de Tesis Doctoral que lleva por título "***Avances en el conocimiento de la fisiopatología del buceo en tortugas marinas: el descubrimiento de la enfermedad descompresiva"*** y que trata de describir y caracterizar por primera vez esta nueva entidad patológica que afecta a las tortugas marinas cuando interaccionan con artes de pesca en profundidad. El trabajo incluye un análisis sobre las formas de diagnóstico y tratamiento más efectivas en los casos afectados, así como el posible impacto que podría tener la enfermedad a escala global sobre la conservación de las diferentes poblaciones de tortugas marinas como posible factor de mortalidad retardada no considerado hasta el momento.


JUSTIFICACIÓN
Y
OBJETIVOS

III- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Las tortugas marinas son reptiles buceadores perfectamente adaptados a lo largo de miles de años de evolución a la vida en los océanos. Estos animales realizan un papel fundamental en el mantenimiento de los ecosistemas marinos: regeneración de praderas oceánicas, arrecifes o playas entre otros.

Actualmente, 6 de las 7 especies de tortugas marinas están amenazadas de extinción según la Lista Roja de la IUCN. La gran mayoría de los factores que están llevando al colapso de las distintas poblaciones de tortugas tienen su origen en la actividad humana (www.iucnredlist.org; ultima consulta abril 2021). Entre las principales amenazas para la supervivencia de estas especies figuran el calentamiento global, la basura marina y los plásticos, la degradación del litoral costero y el desarrollo urbanístico, la contaminación ambiental, la caza intencionada o la sobrepesca. Sin embargo, la interacción accidental con artes de pesca es considerada como la principal amenaza a nivel global para las poblaciones de tortugas, a pesar de que tanto su alcance como sus efectos no son del todo conocidos aún (Wallace et al., 2010).

El trabajo como parte del equipo veterinario del Oceanográfic se centró originalmente en el estudio de las causas de enfermedad y muerte de las tortugas capturadas accidentalmente por buques pesqueros, así como en el estudio de los efectos clínicos y fisiopatológicos de la inmersión forzada. Inicialmente el interés fundamental no era tanto el de investigar las causas de enfermedad sino el de maximizar el éxito para la recuperación clínica de las tortugas con las máximas garantías de supervivencia tras su devolución al medio natural. Es en este contexto, es en el que realizamos el descubrimiento de la DCS como nueva entidad patológica nunca antes descrita en estas especies (García-Párraga et al., 2014). A pesar de que la publicación supuso un gran hito científico, generó a su vez cierta controversia en la comunidad científica que investigaba y trabajaba con tortugas marinas, ya que el conocimiento hasta el momento sobre estas especies establecía que eran refractarias al padecimiento de esta enfermedad (Berkson, 1967; Castellini, 2012; Fossette *et al.*, 2010; Lutcavage and Lutz, 1997; Piantadosi and Thalmann, 2004; Rothschild and Martin, 1987). Tras la demostración de la enfermedad, se decidió avanzar con algunos estudios y trabajos recopilatorios para tratar de esclarecer su fisiopatología, los posibles factores de riesgo y poner el posible origen de la enfermedad en contexto con el conocimiento que se tenía de otros vertebrados buceadores (Fahlman et al., 2017a; García-Párraga et al., 2018a; García-Párraga et al., 2018b; Garcia-Parraga et al., 2017; Picazo et al.,

2020). En paralelo y desde un principio, se continuó con la optimización de las técnicas de diagnóstico y tratamiento (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017; Portugues et al., 2018). Posteriormente, se consideró fundamental poder evaluar el impacto de la DCS, tanto en el número de ejemplares afectados como en las tasas de supervivencia post liberación, en condiciones de campo reales a bordo de buques pesqueros donde no existe posibilidad de tratamiento. En este sentido se llevaron a cabo trabajos de campo en Brasil, cuyos resultados dieron lugar a una primera publicación (Parga et al., 2020), mientras que los resultados de los trabajos llevados a cabo en una segunda fase en pesquerías italianas, se incluyen y analizan en esta Tesis pero aún se encuentran en proceso de publicación. Por último, durante estos últimos meses, se ha seguido avanzando en el conocimiento sobre el alcance de la enfermedad en diferentes especies de tortugas, así como su ocurrencia bajo otras circunstancias distintas a las pesquerías que también conducen a la inmersión forzada de las tortugas (Crespo-Picazo et al., 2020; Harms et al., 2020).

El presente trabajo de Tesis doctoral compila por tanto la información generada durante 10 años de investigación de la enfermedad con las tortugas marinas (2011-2020). Durante este periodo, se ha tratado de expandir el conocimiento de la enfermedad a campos más aplicativos en el ámbito de la medicina veterinaria de tortugas marinas y en el campo de la conservación de estas especies.

La **HIPÓTESIS** de esta Tesis Doctoral es que la enfermedad descompresiva es una nueva entidad patológica asociada con la pesca en profundidad en las tortugas marinas que puede tener un alto impacto poblacional sobre su conservación al generar una mortalidad asociada hasta ahora no considerada.

Para desarrollar esta hipótesis, se fijaron los siguientes **OBJETIVOS:**

1. Primer Objetivo: evidenciar y demostrar la existencia de la enfermedad descompresiva en las tortugas marinas, e indagar sobre los posibles mecanismos que la desencadenan. Esta parte del trabajo corresponde fundamentalmente al realizado y publicado antes de mi matriculación como alumno de doctorado en la UCM y se desarrolla en el Capítulo 1.
2. Segundo Objetivo: describir la mejor aproximación al diagnóstico y tratamiento de la enfermedad descompresiva en el paciente. Este objetivo se desarrolla en el Capítulo 2.
3. Tercer Objetivo: estudiar el alcance de la enfermedad descompresiva en las tortugas marinas capturadas accidentalmente en las diferentes pesquerías para estimar el posible impacto sobre las poblaciones y conocer que factores podrían influir en su desencadenamiento con el fin de poder establecer las recomendaciones sobre las medidas de mitigación más adecuadas que

deberían instaurarse para favorecer su conservación. Este objetivo se desarrolla en el Capítulo 3 y se ha subdividido en 3 apartados:

- Subobjetivo 3.1: evaluar el impacto de esta enfermedad en las tortugas que llegan al CR procedentes de las pesquerías de la Comunidad Valenciana para conocer los factores epidemiológicos y pronósticos asociados.
- Subobjetivo 3.2: evaluar el verdadero impacto de la enfermedad descompresiva en condiciones de campo (sin opción a tratamiento) a bordo de buques pesqueros fuera de la Comunidad Valenciana (Brasil e Italia).
- Subobjetivo 3.3: analizar si el efecto de la descompresión es similar en las diferentes especies de tortuga (boba, verde, laúd, olivácea).

Una parte de la población estudiada y de los resultados que se describen en esta Tesis Doctoral están descritos y publicados con anterioridad por mi desde 2014. El descubrimiento de la enfermedad y la fisiopatología del proceso se publicaron antes de mi matriculación como Alumno de Doctorado en 2018. Parte de la información referente a la optimización del diagnóstico, el tratamiento y los estudios de campo para la evaluación del impacto de la enfermedad sobre las tortugas se publicó durante el Doctorado o se incluyen en el presente trabajo, pero están aún pendientes de publicar.

Esta Tesis Doctoral ha aportado contenido a 8 artículos científicos publicados en revistas indexadas y 4 capítulos de libros en coautoría. Se espera que la información aportada en esta Tesis sea especialmente trascendente para la conservación de las tortugas. Esta nueva enfermedad expone que las estimaciones actuales sobre mortalidad por pesca en tortugas están subestimadas, por lo que deberían instaurarse nuevas medidas de mitigación del impacto pesquero para la sostenibilidad y recuperación de las poblaciones de tortugas marinas.

ESTADO DEL ARTE



IV- ESTADO DEL ARTE

A – TORTUGAS MARINAS: GENERALIDADES

A.1- TAXONOMÍA

Las tortugas marinas son reptiles buceadores del Orden: Testudines pertenecientes a la Superfamilia Chelonioidea que evolutivamente proceden de ancestros terrestres que volvieron al mar.

Actualmente existen 7 especies diferentes que se dividen a su vez en 2 familias. La familia Cheloniidea o tortugas de caparazón óseo, que contiene a 6 de las especies incluyendo la tortuga boba (*Caretta caretta*), la tortuga verde (*Chelonia mydas*), la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*), la tortuga lora o bastarda (*Lepidochelys kempii*), la tortuga olivácea (*Lepdochelys olivacea*) y la tortuga plana o aplanada (*Natator depressus*) que es la menos conocida de todas ellas. Por otro lado, la familia Dermochelyidae contiene una única especie superviviente, la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) que es la especie que alcanza un mayor tamaño llegando a más de 2 metros de longitud de caparazón y 700kg de peso, siendo la mejor adaptada al buceo profundo. A diferencia de las anteriores, su caparazón no es óseo sino de un tejido conjuntivo fibroso muy denso rico en grasa (Wyneken et al., 2013a). En general, el grupo de las tortugas marinas contiene unos de los vertebrados marinos buceadores en apnea que realizan inmersiones más largas y profundas, superando en el caso de las tortugas laúd la hora de duración y los 1200m de profundidad (Byles, 1988; Houghton *et al.*, 2008; Sakamoto *et al.*, 1990). En el caso de otras especies como las tortugas bobas o las oliváceas, las profundidades máximas registradas gracias a la colocación de dispositivos de telemetría, son significativamente menores aunque aún muy considerables: 233m y 290m respectivamente (Plotkin et al., 2002; Sakamoto et al., 1990).

A.2- BIOLOGÍA BÁSICA

En general las diferentes especies de tortugas marinas están ampliamente distribuidas por todos los mares tropicales y templados del planeta. Solo dos especies, la tortuga lora o bastarda (fundamentalmente distribuida en la región del golfo de México) y la tortuga plana (en aguas del norte de Australia) tienen un área de distribución más restringido. Durante los primeros 3-5 años de vida, los

juveniles de las diferentes especies tienen una vida más pelágica alejada de costa (fase oceánica). Sin embargo, a medida que van madurando, la mayoría de las especies de tortugas marinas tienden a mantenerse la mayor parte del tiempo asociadas a la plataforma continental más cerca de costa (fase nerítica). Son animales migratorios que llegan a hacer grandes desplazamientos por todo el planeta entre zonas de alimentación y nidificación. Este grupo taxonómico desempeña además un papel fundamental en el mantenimiento de los ecosistemas oceánicos siendo también considerados unos excelentes centinelas del estado de conservación de los ecosistemas marinos (Wyneken et al., 2013a).



Figura 1: Diagrama con las 7 especies diferentes de tortugas marinas indicando sus características morfológicas distintivas básicas, así como su estatus de conservación. Fuente: www.seeturtles.org

La mayoría de las especies de tortugas marinas mantienen una dieta omnívora de por vida, incluyendo alimentos tanto de origen vegetal (algas, fanerógamas marinas, etc.) como animal (crustáceos, moluscos, equinodermos, cnidarios, gusanos, poríferos o peces). Algunas excepciones son la tortuga laúd que tiene una dieta basada casi exclusivamente en medusas (Dodge et al., 2011) y la tortuga verde que parte de una dieta omnívora cuando es juvenil pero en fase adulta pasa a una dieta prácticamente vegetariana (Arthur et al., 2008). En cualquier caso, para el resto de tortugas también se ha descrito cierta especialización y/o consumo preferencial de los diferentes alimentos según las especies y su

distribución como es el caso de las carey muy especializadas en el consumo de esponjas en la región del caribe (Meylan, 1988).

Las tortugas se encuentran entre los reptiles más grandes que existen y como tales, son animales poiquilotermos que respiran aire a través de los pulmones. Excepcionalmente en el caso de las tortugas laúd, se ha podido evidenciar que gracias a su gran tamaño, la existencia de plexos arteriovenosos en sus aletas que actúan como intercambiadores de calor a contracorriente, la termogénesis muscular y la grasa de aislamiento, tienen cierta capacidad para mantener una temperatura corporal de hasta 8ºC por encima de la temperatura del agua, lo que probablemente contribuya a que esta especie sea la que haya tenido una mayor capacidad en colonizar aguas más frías tanto en profundidad como en proximidad a las zonas polares (Greer et al., 1973; James et al., 2006; Paladino et al., 1990).

Por último, cabe destacar que el ciclo de vida de las tortugas marinas se desarrolla prácticamente en su totalidad en el medio marino al que se encuentran perfectamente adaptadas. Únicamente las hembras en el momento de la hacer la puesta de huevos y los neonatos en su desarrollo dentro del nido y tras su eclosión en la travesía hacia el mar se mantienen en tierra firme en playas arenosas.

A.3- ADAPTACIONES A LA VIDA MARINA Y EL BUCEO

Como adaptaciones más relevantes para facilitar la natación cuentan con la modificación de sus extremidades (alargadas y aplanadas en forma de pala) que funcionan a modo de aletas. También la forma hidrodinámica y aplanada de su caparazón (que además es más ligero), el desarrollo de una potente musculatura pectoral y un cuello más corto y robusto que lleva a impedir la retracción de la cabeza y las extremidades en su interior. Además, próximas a los ojos cuentan con un par de glándulas de la sal que les facilitan la excreción del exceso de cloruro de sodio.

Para facilitar su capacidad de buceo cuentan con una serie de adaptaciones cardiovasculares anatómicas y fisiológicas que son muy relevantes para comprender la fisiopatología de la enfermedad que se describe en este trabajo, por lo que procederemos a detallarlas a continuación:

La anatomía cardiovascular y funcional de las tortugas marinas es más compleja de lo que inicialmente podría parecer a primera vista en base a su estructura básica. Su corazón es tricameral y consta de un par de atrios y un solo ventrículo muscular (**Figura 1**). Dentro del celoma y por encima de los atrios y el ventrículo se superpone una cuarta cámara vascular, amplia y de paredes delgadas denominada seno

venoso. La sangre venosa que retorna del cuerpo drena en el seno venoso procedente de cuatro grandes vasos: Las precavas izquierda y derecha, la vena hepática izquierda y la postcava. La sangre del seno venoso drena hacia el atrio derecho a través de la abertura sinusal posterior. Los atrios derecho e izquierdo están separados completamente el uno del otro. El atrio derecho tiende a ser mayor en tortugas de caparazón duro y más muscular que el atrio izquierdo. El atrio izquierdo recibe la sangre de las venas pulmonares a través del foramen pulmoatrial. Los atrios se vacían en el ventrículo a través de los pasos o embudos atrio ventriculares (Farrell, 1998; Webb, 1979).

El ventrículo está compuesto a su vez de tres compartimentos interconectados o "*cavum*": El *cavum pulmonale*, el *cavum venosum* y el *cavum arteriosum*. El *cavum arteriosum* y *cavum venosum* se encuentran más dorsalmente respecto al *cavum pulmonale*. Hay un tabique muscular o cresta en el ventrículo a lo largo de su pared interna dorsal que comienza inmediatamente caudal al septo interatrial y se extiende hacia el ápex. La cresta no llega a conectar con la pared ventral del ventrículo a lo largo de su longitud y por lo tanto no hay cámaras independientes dentro del ventrículo. Sin embargo, hay una separación parcial entre el *cavum arteriosum* y el *cavum venosum* y, durante la sístole ventricular, se produce una separación funcional con en el *cavum pulmonale* entre flujo sanguíneo pulmonar y sistémico gracias a la cresta muscular del ventrículo que en contracción entra en contacto con la pared.

Las relaciones funcionales de las cámaras (seno venoso, los atrios y el ventrículo) y los compartimentos dentro del ventrículo son más fáciles de entender en el contexto de la circulación de la sangre. A continuación, se incluye un gráfico explicativo para facilitar la comprensión (Figura 2).

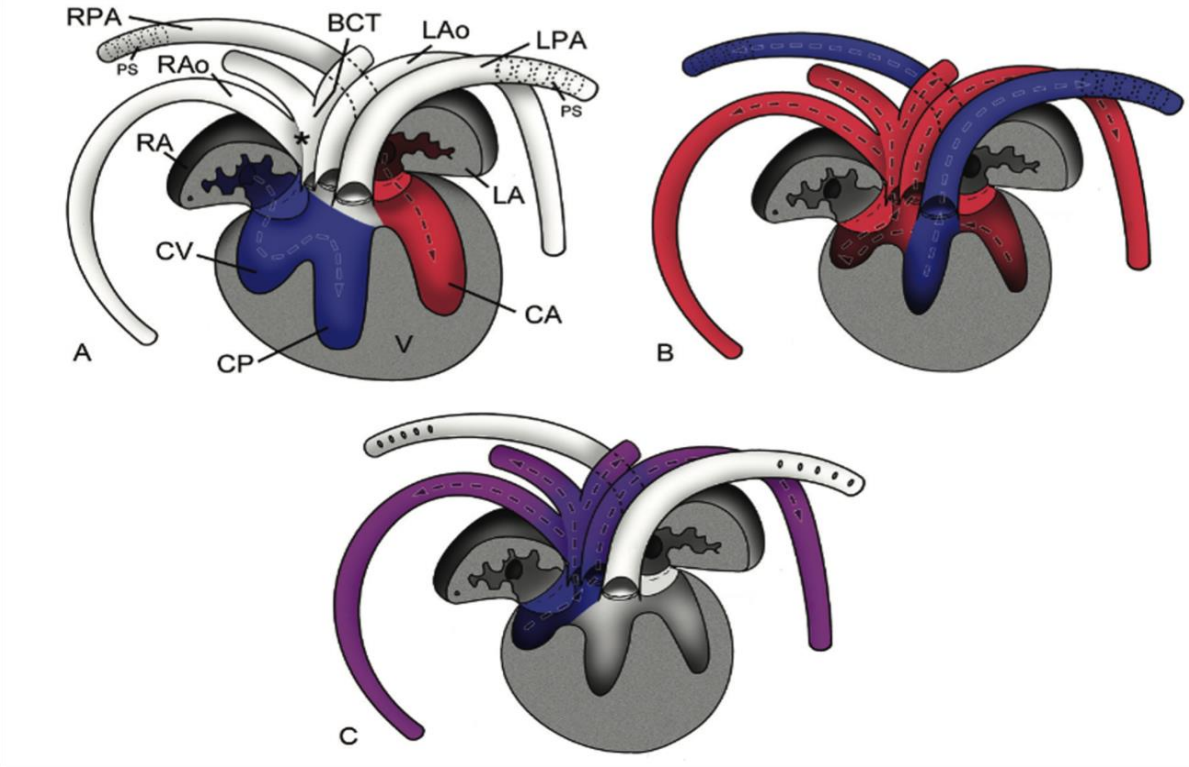


Figura 2: Diagrama representativo de la anatomía y fisiología básicas del corazón de las tortugas marinas. En rojo se representa la sangre oxigenada procedente de los pulmones y en azul la sangre desoxigenada procedente de circulación sistémica. A. Corazón en diástole (llenado) con el animal en superficie. Nomenclatura: RPA, Arteria pulmonar derecha; BCT, Tronco braquiocefálico; LAo, Aorta Izquierda; LPA, Arteria pulmonar izquierda; PS, Esfinter pulmonar; RAo, Aorta derecha; RA, Atrio derecho; LA, Atrio izquierdo; CV, Cavum venosum; CA, Cavum arteriosum; CP, Cavum pulmonale; V, Ventriculo. B. Corazón en sístole con el animal en superficie. El circuito pulmonar se mantiene permeable y funcional (azul). C. Corazón en sístole durante el buceo. Se produce un cierre de los esfínteres pulmonares y el circuito funcional se restringe a la circulación sistémica mediante un shunt intracardiaco derecha-izquierda. Fuente: (Garcia-Parraga et al., 2017)

La respuesta al buceo en vertebrados ha sido tradicionalmente uno de los aspectos de la fisiología que más interés han despertado presentando muchas similitudes en todas las especies estudiadas hasta la fecha. La respuesta incluye una serie de ajustes comunes como son la reducción de la frecuencia cardiaca (y gasto cardiaco) o la vasoconstricción periférica, que se presupone podrían servir para preservar al máximo el oxígeno disponible para su uso en órganos vitales con menor tolerancia a la hipoxia como el cerebro o el corazón (Scholander, 1963).

En el caso particular de las tortugas, un aspecto vital de la función cardiopulmonar asociada al buceo es su capacidad de control de la cantidad de flujo sanguíneo que se deriva a la circulación pulmonar y

a la sistémica a través de mecanismos de *shunt*, derivación o baipás. Como hemos visto, a diferencia del sistema cardiopulmonar de los mamíferos, en el caso de las tortugas la circulación pulmonar y sistémica no están anatómicamente separadas en circuitos independientes. La existencia de un septo ventricular incompleto y la presencia de esfínteres musculares a nivel de las arterias pulmonares, permiten que se pueda realizar un *shunt* intracardiaco, desviando una mayor o menor proporción de sangre en cada latido a la circulación pulmonar o sistémica según las necesidades (Sapsford, 1978). Esta característica también está presente en otros quelonios no siendo exclusiva de tortugas marinas aunque en estas el mecanismo parece estar más desarrollado (Garcia-Parraga et al., 2017). Recientemente, gracias a los estudios de TC multidetector de alta resolución, se ha podido determinar también la presencia de numerosas anastomosis arteriovenosas intrapulmonares en tortugas bobas que podrían también facilitar el shunt minimizando el intercambio gaseoso (Ricciardi et al., 2019). De todas las tortugas marinas, la capacidad de separación del flujo sanguíneo pulmonar y sistémico parece estar mejor desarrollada en tortugas laúd, basándose en la presencia de una cresta muscular ventricular relativamente bien desarrollada en comparación con las otras especies (White, 1976a; Wyneken, 2007). Se cree además que los *shunts* cardiacos tienen importantes funciones fisiológicas vinculadas con las tasas metabólicas bajas y los patrones de ventilación intermitente de reptiles (Burggren et al., 2020; Hicks and Wang, 1996). En general, los *shunts* son clasificados como de "derecha a izquierda" (R-L por sus siglas en inglés) y "de izquierda a derecha" (L-R por sus siglas en inglés). Durante las maniobras de R-L, parte de la sangre que en principio se dirigía hacia el circuito pulmonar, es redirigida (puenteada) hacia el circuito sistémico. Los *shunts* R-L están asociados con la apnea (buceo) mientras que los *shunts* L-R ocurren durante la ventilación normal en superficie. Por tanto los *shunts* son bidireccionales activándose dependiendo de las circunstancias (Hicks and Comeau, 1994). El grado en que se produce el *shunt* probablemente está determinado por la interacción compleja entre un número de factores, incluyendo la ventilación, la contractilidad, la resistencia vascular (p. ej., la contracción de los esfínteres pulmonares), la precarga y la poscarga (Garcia-Parraga et al., 2017). Esta regulación es central a través del sistema parasimpático (vagal) inervando el corazón, pulmón y arterias pulmonares (Milsom *et al.*, 1977; Wang *et al.*, 2001). La señal aferente proviene de los quimiorreceptores sensibles a la presencia de oxígeno en los arcos aórticos y los receptores de distensión del parénquima y sensores de dióxido de carbono en el pulmón (Wang *et al.*, 2001). El tono vagal es alto en reptiles durante el reposo reduciéndose durante ciertos eventos fisiológicos o por factores ambientales, por ejemplo, el ejercicio, la digestión, temperatura, que inducen un aumento de la tasa metabólica (Wang *et al.*, 2001). La reducción del tono vagal incrementa el ritmo cardíaco y

reduce la resistencia vascular pulmonar, disminuyendo o invirtiendo el *shunt* R-L y aumentando la perfusión pulmonar, que a su vez aumenta el suministro de oxígeno a los tejidos a través del aumento del gasto cardiaco y la oxigenación arterial (Burggren, 1977; Shelton and Burggren, 1976; Wang *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2001). La frecuencia cardíaca y el flujo sanguíneo pulmonar a menudo aumentan inmediatamente antes de tener lugar la respiración, lo que sugiere que los mecanismos de control central mediados por niveles elevados de tono simpático son igualmente importantes en la regulación de la función cardiovascular (Shelton and Burggren, 1976; Wang and Hicks, 1996a; Wang et al., 2001; West et al., 1992; White and Ross, 1966).

Del ventrículo izquierdo emergen tres arterias principales: la aorta izquierda, la aorta derecha y el tronco pulmonar. Estas arterias y sus ramas son de paredes musculares gruesas y elásticas, propiedades que contribuyen a la dinámica del flujo sanguíneo (Wang et al., 2001).

Los vasos cervicales, especialmente las venas yugulares externas (senos cervicales dorsales) son los más frecuentemente utilizados para el acceso venoso. Estos grandes vasos están situados dorsalmente en cuello entre los músculos biventer y los cervicales transversos, que son fácilmente visibles en Cheloniids o tortugas de caparazón óseo o duro (Figura 3). Las venas yugulares externas son mucho más profundas en las tortugas laúd y las referencias anatómicas externas son mucho más difusas. Los vasos interdigitales y la vena caudal han sido descritos como alternativas para la venipunción en esta especie (Wallace and George, 2007; Werneck et al., 2014).

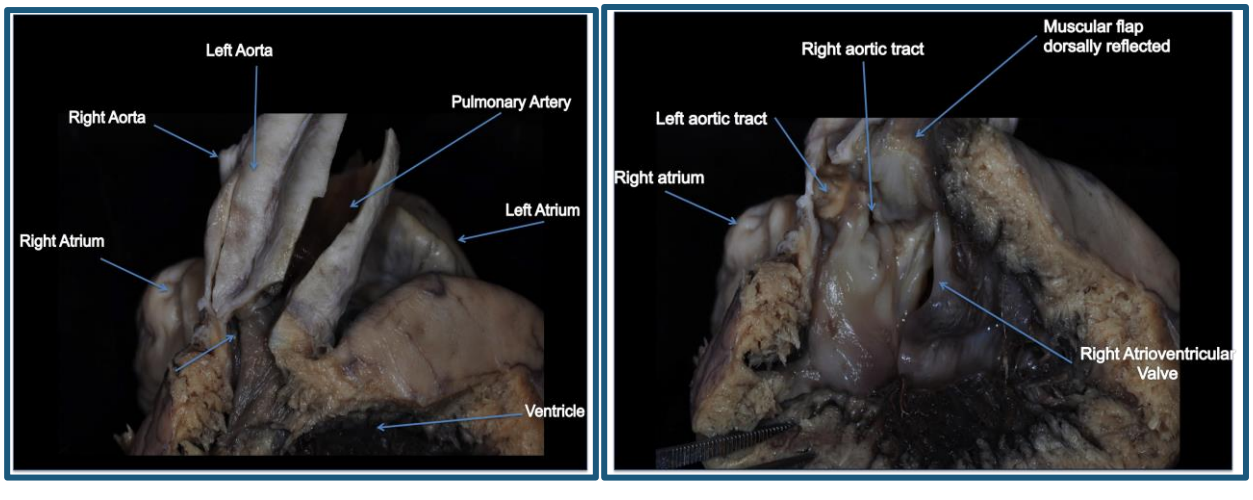


Figura 3: Anatomía de los grandes vasos a su salida del corazón en una tortuga boba. Nótese que la cavidad ventricular permite la salida de sangre tanto por las aortas derecha e izquierda como a través del tronco pulmonar no existiendo una separación entre ambas y permitiendo el shunt.

Además, entre otras adaptaciones importantes para al buceo, cuentan con una tráquea y unos bronquios principales rígidos reforzados en cartílago y unos pulmones relativamente pequeños, alargados, aplanados y fácilmente compresibles que además se colapsarían en profundidad por el efecto de la presión hidrostática a pesar de bucear en inspiración (Berkson, 1967). Los pulmones se encuentran inmediatamente por debajo del caparazón pegados el techo de la cavidad corporal discurriendo a ambos lados de la columna vertebral. Los pulmones en estos reptiles son multicamerales (los más complejos dentro de los reptiles) y de estructura esponjosa y elástica dotada de una importante cantidad de músculo liso (Perry and Duncker, 1978; Solomon and Purton, 1984; Wyneken, 2001b). Los bronquios principales tras penetrar en cada uno de los pulmones los recorren en prácticamente toda su longitud disponiendo de múltiples aperturas hacia las diferentes cámaras (no hay bronquios secundarios). A diferencia de los mamíferos, estas cavidades aéreas son mucho mayores que los alveolos de los mamíferos y los conductos de unión al bronquio principal no disponen de ningún soporte de cartílago estando fuertemente dotados de musculatura lisa (Solomon and Purton, 1984; Wyneken, 2001b). Los sacos terminales más amplios donde se produce el intercambio gaseoso en el caso de las tortugas se denominan faveolos o edículos (Duncker, 2004). En ausencia de diafragma, la ventilación se produce a expensas de la musculatura de las cinturas escapular y pélvica que tiran del plastrón y modifican las presiones en el interior de la cavidad pleuroperitoneal. Durante el buceo en profundidad, la presión desplazaría el aire acumulado en los faveolos pulmonares hacia las vías respiratorias reforzadas de cartílago donde no se produciría intercambio gaseoso y por tanto no habría difusión de nitrógeno (Kooyman 1973 Lutcavage *et al.* 1989 Lutcavage & Lutz, 1997).



Figura 4: Extracción de sangre del seno cervical dorsal (vena yugular externa) en una tortuga boba

Al salir a superficie, las tortugas lo hacen con una espiración explosiva seguida de inmediato de una profunda inspiración. La respiración es rápida y muy eficiente para eliminar todo el CO_2 generado durante el buceo y restablecer las reservas de O_2 ya que el tiempo en superficie es muy limitado. Generalmente se mantienen saliendo a respirar frecuentemente cada pocos minutos cuando están activas pudiendo pasar varias horas en profundidad durante el descanso (Hochscheid et al., 2005). En general, se calcula que pueden llegar a pasar más del 90% de su vida sumergidas (Lutcavage and Lutz, 1997) gracias a la optimización y el uso eficiente de oxígeno a través de los ajustes cardiovasculares y respiratorios comentados. En muchos casos, estos mecanismos son similares a las adaptaciones también presentes en otros vertebrados apneístas incluyendo aves, reptiles y mamíferos marinos (Rothschild and Martin, 1987; Southwood, 2013; Southwood *et al.*, 1999). En el caso de las tortugas marinas, los pulmones se consideran un reservorio fundamental de O_2 durante el buceo, cumpliendo además una función importante en el control de la flotabilidad la cual pueden ajustar en base al volumen del aire inspirado (Hochscheid et al., 2005; Lutcavage et al., 1989).

A.4- EVOLUCIÓN

Evolutivamente, el origen de las tortugas marinas se remonta al género *Plesiochelys* perteneciente al jurásico tardío hace más de 150 millones de años. Sin embargo, este género no es estrictamente un ancestro como tal de las especies actualmente supervivientes. La especie más antigua procedente del registro fósil y que mantendría relación con las especies actuales sería *Desmatochelys padillai* datada en el cretácico temprano. En general las tortugas actuales se consideran que se escindieron por una vía evolutiva diferente del resto de los quelonios hace unos 110 millones de años (Kear and Lee, 2006).



Figura 5: Ejemplar de tortuga prehistórica procedente del registro fósil mostrando lesiones óseas compatibles con osteonecrosis disbárica. Fuente: (Rothschild and Naples, 2015)

Existen algunas evidencias en el registro fósil que describen lesiones de tipología osteonecrótica posiblemente asociadas con fenómenos de osteonecrosis disbárica como consecuencia de eventos descompresivos durante el buceo en reptiles prehistóricos de vida acuática (Rothschild and Martin, 1987; Rothschild and Naples, 2015). Esto pondría de manifiesto que al menos en un inicio, los primeros reptiles que volvieron a una vida acuática y empezaron a bucear, podrían ser susceptibles y verse afectados por la enfermedad descompresiva (DCS por sus siglas en inglés) al no disponer de los suficientes mecanismos adaptativos.

La osteonecrosis disbárica tal y como se sugería en el caso de los huesos de cachalotes custodiados en museos (Moore and Early, 2004), sería una de las pocas lesiones observables a largo plazo después de sufrir episodios de DCS en los primeros reptiles. Estas lesiones particularmente han sido descritas en mosasaurus y en fósiles de tortuga marina del cretácico. Sin embargo estas lesiones observables en el registro fósil son muy raramente descritas en especies de reptiles marinos después del mioceno (Rothschild and Martin, 1987), lo que sugiere que los taxones más recientes incluyendo las actuales tortugas marinas, han evolucionado desarrollando adaptaciones anatómicas, fisiológicas y de comportamiento para, a la par que poder mejorar su capacidad de buceo, mitigar los posibles daños asociados a la DCS. Por este motivo, tradicionalmente tanto los mamíferos marinos como las tortugas

marinas se han considerado protegidos o incluso refractarios a la DCS gracias a sus múltiples adaptaciones que han ido adquiriendo a lo largo de la evolución (Berkson, 1967; Castellini, 2012; Fossette *et al.*, 2010; Lutcavage and Lutz, 1997; Piantadosi and Thalmann, 2004; Rothschild and Martin, 1987).

A.5- AMENAZAS y CONSERVACIÓN

Durante las últimas décadas se ha producido una dramática disminución mundial de las poblaciones de tortugas marinas. Todas las especies de tortugas marinas de las que se tienen estimaciones fiables de su estatus poblacional se encuentran bajo algún grado de amenaza (desde vulnerable, en peligro, o en peligro crítico de extinción) según la Lista Roja de la International Union for Conservation of Nature (IUCN) (www.iucnredlist.org; consultado el 21 de abril de 2021). En peligro implica que la especie está altamente amenazada de extinción en todo su rango de distribución o en una parte importante del mismo, en peligro crítico implicaría que el riesgo es extremo, mientras que el estatus vulnerable implicaría que la especie tiene un riesgo alto de extinción por causas antropogénicas si no se interviene de forma inmediata tomando medidas de reparación o mitigación. Adicionalmente todas las especies de tortugas marinas están incluidas en el Apéndice 1 del Convenio CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) quedando restringido el comercio internacional de tortugas y sus derivados (www.checklist.cites.org, consultado el 21 de enero de 2021). Dependiendo ya no solo de las especies, sino de las poblaciones concretas de tortugas en las diferentes regiones del planeta, existen diferencias significativas en cuanto a su grado de amenaza, así como de las causas que contribuyen a la reducción de estas poblaciones. Es por este motivo que, desde el punto de vista de la gestión para su conservación, las diferentes especies de tortugas se subdividen en diferentes Unidades de Manejo Regionales (RMU por sus siglas en inglés) y cada una de estas RMU puede presentar amenazas o planes de gestión diferentes.

Actualmente, las principales amenazas para las poblaciones de tortugas son de origen antrópico e incluyen, la pesca accidental, el cambio climático, la caza furtiva de los animales o el espolio de los nidos para la recolección de sus huevos, la basura marina (y muy especialmente la problemática generada por los componentes plásticos), la destrucción del hábitat y degradación de las costas, la interferencia o molestias generadas por ciertas actividades turísticas, comerciales o industriales, o los vertidos de hidrocarburos y la contaminación de las aguas (www.iucnredlist.org; consultado el 21 de abril de 2021).

B – TORTUGAS E INTERACCIÓN CON PESCA

La captura accidental de tortugas marinas por las diferentes flotas pesqueras a nivel mundial se considera actualmente la mayor amenaza a nivel global para la conservación de todas las especies contenidas dentro de este grupo taxonómico (Gilman et al., 2009; Lewison and Crowder, 2007; Lewison et al., 2004a; Wallace et al., 2008; Wallace et al., 2013; Wallace et al., 2010), y es considerada una amenaza moderada o alta para más del 75% de todas las unidades de gestión regional de tortugas marinas en todo el mundo (Lewison *et al.*, 2013; Wallace *et al.*, 2011). A continuación, se recoge el conocimiento actual sobre la captura y su impacto poblacional.

B.1- IMPACTO DE LAS PESQUERÍAS PARA LA CONSERVACIÓN DE LAS POBLACIONES DE TORTUGAS

Antes de la instauración de medidas de reducción de capturas accesorias (*by-catch*), algunas estimaciones en base a las declaraciones de las capturas por los pescadores apuntaban a que aproximadamente 85.000 tortugas marinas fueron capturadas accidentalmente en el mundo desde 1990 hasta el 2008, pero la verdadera cifra del total de capturas en este periodo se estima que es superior en al menos 2 órdenes de magnitud, dado que sólo el 1% de las flotas proporciona estos datos (Wallace *et al.*, 2010). Por otro lado, en otro estudio se estimó que sólo entre 1990 y 2007, hubo unas 346,500 interacciones de pesca por año, derivando en una mortalidad estimada de unos 71.000 individuos (Finkbeiner *et al.*, 2011).

Un trabajo de revisión de las capturas accidentales de tortugas marinas centrado en el Mar Mediterráneo calcula que se producen más de 132.000 capturas y de 44.000 muertes por año (Casale, 2011). En el Océano Atlántico, por ejemplo, la pesca de arrastre industrial en Gabón es responsable de un estimado anual de unas 1026 capturas accidentales de tortugas oliváceas, con una tasa de mortalidad que se calcula puede ir desde 63 a 794 tortugas por año, poniendo en peligro a la viabilidad población reproductora local (Casale *et al.*, 2017). Como ejemplo en el Océano Pacífico, destaca la mortalidad de tortugas laúd por la pesca con redes de enmalle de pez espada en Chile y Perú que han contribuido al colapso de la colonia reproductora en la costa del Pacífico Mexicana (Oravetz, 1999, Spotila *et al.*, 2000).

Existen trabajos que apuntan a unas diferencias en las tasas de mortalidad muy significativas en función del tipo de pesquerías. En una evaluación global de la captura accidental a nivel mundial de

tortugas marinas en diferentes artes de pesca, las mortalidades fueron significativamente mayores en artes de pesca con redes y arrastreros que en palangres, haciendo hincapié en la necesidad de mitigar el impacto por estas artes (Wallace *et al.*, 2013). En este estudio, los metieres fijados al fondo tenían de forma consistente tasas de mortalidad más altas (a pesar de no ser estadísticamente significativas) en comparación con los aparejos utilizados cerca de la superficie (Wallace *et al.*, 2013). Algunas regiones, como la del suroeste del Océano Atlántico y el Mar Mediterráneo se han identificado como puntos calientes en referencia a la intensidad de capturas accidentales que se producen (Lewison *et al.*, 2014), aunque los autores destacan la falta generalizada de datos (Wallace *et al.*, 2013). Por otro lado, y aunque sus efectos son mucho más difíciles de trazar y cuantificar en comparación con la pesca comercial, los artes menores o la pesca artesanal en determinados ámbitos es enormemente diversa y se cree que pueden llegar a afectar de forma muy severa a las poblaciones de tortugas marinas.

En cualquier caso, el número total de tortugas marinas pescadas accidentalmente a nivel mundial (Hamann et al., 2010; Lewison et al., 2004a; Wallace et al., 2010), así como la cifra de mortalidad asociada a la interacción siguen siendo inciertos (Epperly *et al.*, 2002; Hamann *et al.*, 2010; Lutcavage and Lutz, 1997), ya que evaluar de forma precisa los efectos globales de la captura accidental es extremadamente complejo (Lewison et al., 2004). La dimensión de la flota pesquera mundial es demasiado amplia como para ser controlada de forma eficaz, sobre todo teniendo en cuenta que buena parte de la pesca se produce en aguas internacionales y muchos barcos permanecen indocumentados (Lewison *et al.*, 2014). Para abordar la cuestión de la captura accidental de tortugas marinas, por lo tanto, se requiere de más investigación y sobre todo de esfuerzos de colaboración entre científicos, conservacionistas, industria y gestores (Lewison *et al.*, 2004).

En los últimos años, el incremento del esfuerzo de investigación se ha centrado en el estudio y conocimiento de los impactos de la captura accidental a nivel de las diferentes poblaciones de tortugas marinas (Álvarez de Quevedo *et al.*, 2010; Casale *et al.*, 2004; Wallace *et al.*, 2013) proporcionando información muy útil para los modelos ecológicos, la estrategia de conservación, y la gestión de las pesquerías y de las políticas pesqueras. Sin embargo, la precisión de las estimaciones de mortalidad real a nivel mundial continúa siendo un importante desafío, fundamentalmente por la dificultad en hacer estimaciones de mortalidad retardada de tortugas que son liberadas de los aparejos de pesca vivas y aparentemente en buen estado y que luego terminan muriendo (Chaloupka *et al.*, 2004; Mangel *et al.*, 2011), y por la falta de información completa sobre la fiabilidad total del esfuerzo pesquero, y muy especialmente en lo referente a la captura accidental real en pesquerías a pequeña escala

(artesanales) (Casale, 2011; Wallace *et al.*, 2010). En este sentido. la telemetría por satélite ha surgido como una herramienta útil para inferir la suerte de los animales tras su liberación (Chaloupka *et al.*, 2004; Swimmer *et al.*, 2014) y es de hecho la tecnología que aplicamos en este trabajo de Tesis con el fin de poder sacar conclusiones sobre el impacto de las pesquerías y de la DCS.

El desconocimiento de la tasa de supervivencia post-interacción es de hecho considerado como uno de los principales obstáculos para comprender el verdadero impacto de las pesquerías sobre las poblaciones de tortugas marinas (Lewison *et al.*, 2013). Hasta ahora los estudios de las causas de la mortalidad en tortugas marinas asociados a las interacciones con pesca se han centrado principalmente en los efectos de la hipoxia y la aspiración de agua asociados con la inmersión forzada, o a las secuelas de las lesiones traumáticas generadas en la interacción con el aparejo, la pesca o con el manejo a bordo (Sasso and Epperly, 2006; Stabenau and Vietti, 2003; Upite *et al.*, 2013). Ha habido pocos estudios encaminados a evaluar la supervivencia posterior a la liberación de tortugas marinas tras su captura accidental (Maxwell *et al.*, 2018; Stacy *et al.*, 2016). Esto presenta una brecha crucial en el conocimiento, ya que dicha información es esencial para perfeccionar las prácticas de ordenación sostenible de la pesca.

El presente trabajo de Tesis Doctoral ha pretendido ir más allá de los hallazgos muerte/supervivencia post-interacción, describiendo por primera vez, una nueva condición no detectada hasta el momento que podría comprometer la supervivencia de miles de tortugas capturadas accidentalmente tras su liberación, pudiendo llevar a incrementar aún más las estimaciones de mortalidad asociada a las pesquerías. Se trata del embolismo gaseoso (EG) y la consecuente enfermedad descompresiva (DCS) en tortugas capturadas con redes de enmalle (trasmallo) y de arrastre. Este estudio desafía el conocimiento que se tenía acerca de las adaptaciones fisiológicas de las tortugas marinas para el buceo (Hochscheid *et al.*, 2007; Lutcavage and Lutz, 1997; Southwood *et al.*, 1999) y abre una nueva área de interés con respecto a los efectos de la captura accidental y la mortalidad retardada asociada.

B.2- TIPOLOGÍA DE LAS INTERACCIONES PESQUERAS

Tanto la pesca comercial, las diferentes formas de pesca artesanal, así como la pesca recreativa, pueden resultar en interacciones con tortugas marinas. Aunque en general no hay solapamiento en cuanto a la actividad entre estos tipos de categorías, sí que hay múltiples similitudes en referencia a los tipos de aparejos que emplean y sobre todo en cuanto al resultado final de la interacción. Las

tortugas marinas pueden de hecho interactuar con los diferentes aparejos de pesca principalmente de cinco formas (no necesariamente excluyentes entre sí):

1. **Confinamiento:** Espacio restringido donde el animal queda atrapado pero libre para nadar y salir a superficie para respirar dentro de ese espacio, como por ejemplo las almadrabas o las redes de cerco. Es la forma de interacción en principio menos lesiva para los animales.

2. **Enmallamiento o enmalle:** Se trata de interacciones con el trasmallo, líneas de cadufos o nasas, o con la línea de palangre, donde el animal queda enredado fundamentalmente por la cabeza o las aletas con el aparejo.

3. **Inmersión forzada**: Se produce cuando el animal queda retenido en profundidad sin poder salir a respirar a superficie. Se produce por ejemplo a causa de trasmallos, redes de arrastre, líneas de nasas, o palangres de fondo. Esta forma de interacción es de hecho la más relevante para nuestro trabajo y es la que desarrollaremos más pormenorizadamente en capítulos posteriores.

4. **Sobreesfuerzo de evasión**: Se produce en un intento del animal por liberarse del aparejo y suele conducir a lesiones musculo esqueléticas asociadas. Se produce por ejemplo al quedar atrapadas en redes de arrastre.

5. **Trauma directo**: Muchas de las pesquerías pueden llegar generar lesiones traumáticas de múltiple gravedad en cualquier parte del cuerpo del animal. Estos traumatismos pueden ser fruto de diversos eventos durante la captura y/o posterior manejo en el barco (Stacy *et al.*, 2016) pudiendo ser atrapadas y arrastradas en diversas artes, golpeadas contra la cubierta del barco tras la apertura del copo cayendo desde el aparejo a cierta altura mientras que son apartadas y manejadas a bordo o cargadas con la grúa, como resultado del impacto con la hélice de un buque pesquero cuando son liberadas muy cerca del motor y este está en marcha, golpeadas o atropelladas por una draga para la pesca de vieiras, o incluso traumas infligidos por los pescadores de forma intencionada. Las lesiones resultantes pueden incluir fracturas, dislocaciones y daño a los tejidos blandos. Debido a la delicada piel que recubre todo el caparazón, las tortugas laúd son considerados más susceptibles a los efectos adversos del trauma externo que el resto de especies de tortugas marinas (Stacy *et al.*, 2016). Es esencial un adecuado manejo de tortugas a bordo (y especialmente los individuos de mayor tamaño cuyo propio peso puede agravar las lesiones durante el manejo por el propio efecto de la gravedad) para minimizar los posibles daños ocasionados por traumatismos.

En muchos casos, las tortugas marinas pueden mostrar lesiones antiguas de otras capturas accidentales ya fueran causadas estando en la red/aparejo o tras su descarga en la cubierta. No son infrecuentes las heridas, cicatrices, amputaciones, fracturas, etc.



Figura 6: Herida antigua de gran tamaño y origen desconocido en la zona cervical dorsal en una tortuga procedente de la captura accidental por arrastre.

6. **Traumatismos por las propias capturas incluidas en el arte o por otras especies mientras están atrapadas:** Las tortugas capturadas pueden mostrar lesiones ocasionadas por tiburones, mordeduras de otras tortugas marinas o incluso por algunas de las propias capturas incluidas en el arte como es el caso de los aguijones de las rayas, los radios de las aletas de algunos peces óseos o los propios peces espada.

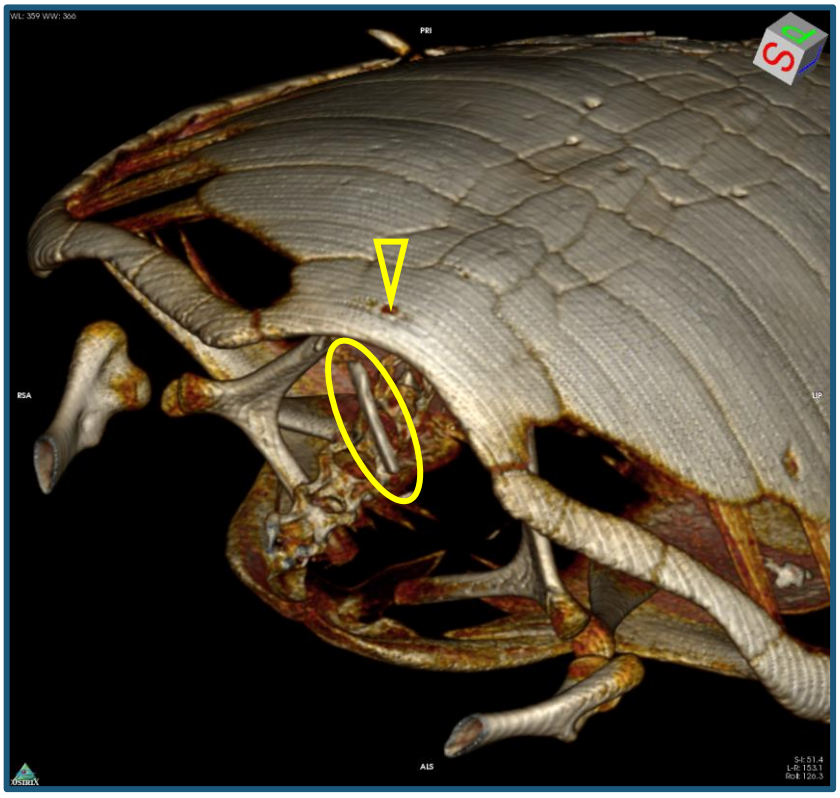


Figura 7: Reconstrucción 3D a partir de una adquisición tomográfica de un ejemplar vivo con punta de pez espada alojada en la región cervical (elipse) tras penetrar a través del escudo nucal del caparazón (flecha). En este caso la herida estaba completamente cicatrizada y la punta secuestrada rodeada de tejido fibroso denso.

En general, los diferentes efectos anteriormente descritos se suelen solapar en una interacción. Así, generalmente concurren lesiones físicas, ahogamiento (con o sin aspiración de agua), miopatía de captura o por esfuerzo y la DCS que se añade por primera vez a esta batería gracias a esta primera descripción. Cada uno de estos mecanismos pueden llevar de forma independiente a diferentes daños en distinto grado, pudiendo inducir o no la muerte, y de suceder ésta, se puede dar de forma inmediata durante el lance o nada más caer en cubierta, incluso poco tiempo o meses después de la interacción, debido por ejemplo, a una infección generalizada, fracturas de mandíbula que impiden la alimentación normal, problemas crónicos de flotabilidad, trastornos musculoesqueléticos que pudieran cursar con daño permanente, ingestión de sedal, etc.

La suerte del animal no sólo depende sólo del tipo de aparejo y técnica de pesca, sino que además es vital la forma en que el animal es manipulado y liberado del arte de pesca por los pescadores a bordo. A veces, la supervivencia puede llegar a depender también de otros factores externos como que el

animal debilitado sea empujado por las corrientes hacia la costa llegando a varar vivo y pudiendo llegar a recibir atención veterinaria, o que sus posibilidades de recuperación se vean reducidas en base a la presencia y densidad de depredadores (principalmente tiburones) en la zona.

Hasta la fecha, los efectos fisiopatológicos ocasionados por la pesca accidental se han evaluado tanto en condiciones de laboratorio como en investigaciones realizadas en campo en condiciones controladas, pero también en el caso de capturas reales procedentes de pesca. Los principales estudios sobre el impacto de las pesquerías sobre las tortugas marinas se han centrado fundamentalmente en el estudio de gases en sangre, estudio del equilibrio ácido-base y electrolítico, medidas de lactato y enzimas tisulares, estudio de la respuesta endocrina, técnicas de diagnóstico por imagen y estudios anatomopatológicos en cadáveres (Parga et al., 2017).

B.3- TIPOS DE PESQUERÍAS OBJETO DE ESTUDIO

A continuación, se describe de forma detallada las dos artes de pesca, arrastre de fondo y trasmallo, que dan lugar de forma mayoritaria a la captura accidental de tortugas marinas en las que se centra este trabajo.

A. Arrastre de fondo para la captura de peces y mariscos

La pesca de arrastre de fondo es una forma de pesca activa que se utiliza principalmente para la captura de crustáceos y/o peces demersales. Las embarcaciones de arrastre de fondo están equipadas con un cono de red que acaba en un fondo ciego llamado copo y con un cuerpo principal al que preceden un número variable de puertas (normalmente entre 2 y 4) que mantienen la boca de la red abierta y pegada al fondo. Una relinga de plomos rueda por el fondo, mientras que otra con flotadores empuja hacia arriba y permite que la boca de la red se mantenga abierta durante todo el arrastre. Normalmente, el tamaño de malla de la red disminuye gradualmente desde la boca hasta el copo. Aunque el funcionamiento general es esencialmente el mismo (Gerosa and Casale, 1999), se dan múltiples variaciones entre países o incluso regiones, dependiendo también de la tipología de las embarcaciones, las especies objetivo y el tipo de fondo.



Figura 8: Aparición de una tortuga capturada accidentalmente en el interior del copo de una red de arrastre en Italia.

Las tortugas marinas suelen interactuar con las redes de arrastre al forrajear o mientras descansan en el fondo. En el norte de la cuenca mediterránea, las interacciones de arrastreros con tortugas marinas son mucho más comunes en los meses de invierno cuando bajan las temperaturas del agua (Casale, 2011; Casale et al., 2008). Esto probablemente se debe a que en estas circunstancias los animales pasan más tiempo descansando en el fondo reduciendo además su capacidad de respuesta ante la presencia de una red de arrastre que se aproxima.

En el caso del arrastre de fondo, los principales factores descritos que podrían conducir a daños y muerte del animal incluyen el impacto físico y daño mecánico de la red y de las toneladas de pescado capturado dentro del copo, los efectos fisiológicos de la inmersión forzada (asfixia y posible aspiración de agua), el agotamiento y el daño muscular como consecuencia del ejercicio físico realizado para intentar salir del aparejo (Harms et al., 2003; Phillips et al., 2015; Snoddy et al., 2009; Snoddy and Southwood Williard, 2010).

Las tortugas procedentes de arrastre pueden llegar con diferentes grados de afección desde mostrarse aparentemente sanas sin ningún signo externo de enfermedad o lesión hasta en estado comatoso o ya clínicamente muertas. El término comatoso se aplica a los animales que muestran un grado de consciencia muy reducido y que se asume que mueren si no se aplica ningún tratamiento o protocolo de reanimación antes de ser liberadas de vuelta al mar (Council and Conservation, 1990). Los diferentes procedimientos de trabajo y parámetros operativos de los metieres, pueden influir de forma decisiva en la tasa de mortalidad, incluida la duración del lance, la profundidad de calado, la intensidad del esfuerzo de pesca, la temperatura del agua, y la posibilidad de que se den capturas repetidas de un mismo ejemplar (Gerosa and Casale, 1999).

De acuerdo con el National Research Council (Council and Conservation, 1990), antes de llevar a cabo la aplicación de medidas de mitigación en la pesquería de arrastre de camarón del sureste de los Estados Unidos, en las que impusieron el uso de dispositivos de exclusión de tortugas (TEDs por sus siglas en inglés), y limitaron los tiempos de faenado para aquellas embarcaciones que no dispusiesen de los mismos, se estimó que esta pesquería causó más muertes de tortugas marinas en la zona, que todas las demás actividades humanas combinadas, por lo que, a priori sería una de los artes de pesca más dañinas y con mayor impacto para las poblaciones de tortugas marinas.

B. Redes de enmalle o trasmallo

Las redes de trasmallo constan de uno o varios paños de malla rectangular grande que se disponen de forma vertical gracias a los flotadores en la línea superior y los contrapesos en la línea de fondo que los fijan a él, a media-agua o cerca de la superficie. Normalmente los peces quedan atrapados por los opérculos al tratar de nadar a través de los filamentos de la red (de ahí su nombre en inglés: "*gillnets*"), que normalmente puede ser simple, de doble o de triple pared atendiendo al número de paños. El tamaño, numero de paños y forma de la malla viene definido generalmente por la especie objetivo (Parga et al., 2017).

Se pueden llegar a combinar varios tipos de redes en un mismo aparejo. Estas redes se colocan normalmente alineadas en gran número, aunque a veces se pueden calar individualmente (Mathiesen, 2015). A pesar de la variabilidad existente, pueden establecerse dos grandes tipos de redes de trasmallo en todo el mundo. Por un lado, las redes de enmalle pelágicas que se centran generalmente en la pesca del pez espada, y que causan gran cantidad de capturas accidentales de tiburones y delfines siendo estas muy poco selectivas (Parga et al., 2017). Y por otro, las redes de trasmallo costeras que

normalmente se utilizan para capturar peces de menor tamaño cerca de costa y que son las más frecuentes en las pesquerías de la Comunidad Valenciana (Gerosa and Casale, 1999). Sin embargo, en las pesquerías costeras se utilizan también redes de enmalle de malla grande (> 12 cm longitud de malla) las cuales, son más propensas a enredar tortugas marinas por sus extremidades y cabeza que las redes con menor luz de malla donde normalmente los animales "rebotan" (Parga et al., 2017). Gerosa y Casale (1999) ya señalaron la dificultad para clasificar este tipo de arte de pesca más costera debido a la gran cantidad de variaciones y modificaciones adaptadas a los usos locales y tradicionales de las diferentes regiones.

Aunque a diferencia del arrastre el arte de trasmallo se considera un método de captura pasivo (ya que los animales se enmallan cuando están nadando libremente), las zonas de fijación en redes de trasmallo de fondo, producen a menudo embolsamientos que aumentan las probabilidades de enmallamiento tanto de especies objetivo como no objetivo (Gilman *et al.*, 2010). Así mismo, es posible también que la presencia de peces o invertebrados capturados en la red pueda servir de reclamo o atrayente provocando un efecto llamada en las tortugas y aumentando así la probabilidad de enmallamiento accidental.



Figura 9: Ejemplares de tortuga boba capturados mediante arrastre y trasmallo y traídas a puerto para su entrega al servicio veterinario del Oceanográfic.

Cabe destacar que en 1991 la Organización de las Naciones Unidas (ONU) prohibió el uso a gran escala de redes de enmalle de deriva de más de 2,5 kilómetros de largo en alta mar debido al gran potencial de capturas no selectivas que se producen cuando se descartan o se pierden este tipo de redes. Al no ser biodegradables, quedan flotando libremente (redes fantasmas), haciendo de la pesca fantasma un problema particularmente grave y persistente. De ahí que actualmente se traten de aunar esfuerzos para minimizar su uso o restringirlo al máximo (FAO 2001-2016).

Entre los efectos negativos del enmallamiento en las tortugas marinas en las redes de trasmallo no solo está el ahogamiento como consecuencia directa de la imposibilidad de salir a la superficie para respirar. El enmalle con líneas de pesca, redes, palangres y la basura marina (procedente o no de restos de artes de pesca), con mucha frecuencia afecta a las extremidades o incluso el cuello de las tortugas, produciendo lesiones por isquemia debido al estrangulamiento. Es por ello por lo que las tortugas enmalladas se encuentran en muchos casos varadas o flotando a la deriva en el mar abierto. La severidad de las lesiones y el pronóstico generalmente dependen del tiempo transcurrido desde el enmalle, la zona afectada por el estrangulamiento (si el cuello está comprometido el pronóstico es bastante peor) y el grado de isquemia inducido por interrupción del flujo sanguíneo en la zona. En algunos casos se ve afectada más de un área anatómica llegando a aparecer animales con varias aletas amputadas por un mismo resto de línea o malla. El grado de compromiso tisular abarca una amplia gama de daños, incluyendo desde la inflamación de las extremidades (que puede ir de leve a severa), la necrosis de los tejidos isquémicos de las aletas, o en los casos más severos la desaparición de los tejidos blandos quedando expuestos únicamente los restos óseos desvitalizados de las extremidades que finalmente también se acaban perdiendo (Parga et al., 2017).

C –LA INMERSIÓN FORZADA

Como base al desarrollo y descripción que iremos haciendo a lo largo de este trabajo sobre la nueva enfermedad descrita, se aporta a continuación un resumen sobre los principales aspectos y efectos conocidos hasta el momento de la inmersión forzada.

C.1- FISIOPATOLOGÍA

La consecuencia directa para muchas tortugas marinas que permanecen sumergidas forzosamente por cualquier tipo de aparejo o pesquería sin poder salir a respirar, es la asfixia por ahogamiento (restricción respiratoria con o sin aspiración de agua de mar). El ahogamiento se define por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como "el proceso de sufrir dificultades respiratorias como consecuencia de la inmersión en un líquido" (van Beeck *et al.*, 2005). Las directrices actuales de la OMS recomiendan que los resultados del ahogamiento se clasifiquen como: con resultado de muerte, con morbilidad (patología asociada) y sin morbilidad, con el consenso de que los términos ahogamiento seco, activo, pasivo, silencioso y ahogamiento secundario dejen de utilizarse.

En tortugas, asociados al ahogamiento, pueden ocurrir varias alteraciones fisiológicas que lleven a diferentes procesos de morbilidad y/o a la muerte. Entre estos procesos que generalmente se combinan agravando el pronóstico se incluirían: asfixia, hipoxia, alteración de los gases sanguíneos y del equilibrio ácido-base, elevación del lactato, desequilibrio electrolítico y miopatía de esfuerzo asociada a los intentos de fuga durante la inmersión (Harms et al., 2003; Phillips et al., 2015; Snoddy et al., 2009; Snoddy and Southwood Williard, 2010). Aunque no se ha podido describir adecuadamente en tortugas marinas, los cambios observados en la concentración de oxígeno arterial, la liberación de catecolaminas y el desequilibrio ácido-base producen alteraciones significativas en la función cardiaca en el ser humano (Lunetta and Modell, 2005). Además, la hiperpotasemia que se reporta en los casos de inmersión forzada y miopatía de esfuerzo en tortugas marinas (Phillips *et al.*, 2015; Stabenau and Vietti, 2003), muy probablemente también pueda contribuir a la aparición de arritmias cardiacas y la parada cardiorrespiratoria. En los casos en los que el ahogamiento se asocia a la aspiración de agua de mar, la condición se agrava mucho ya que, debido a la elevada osmolaridad, el desplazamiento de líquido desde el compartimento vascular a través de la pared del alveolo hacia su luz se ve favorecido. Esto se traduce en una hipovolemia y hemoconcentración con un aumento en la concentración de sodio sérico, cloruro y magnesio. La llegada de agua salada a los alvéolos pulmonares también induce

daños en la membrana basal, la dilución del surfactante y reduce la complianza pulmonar (Giammona and Modell, 1967). El edema pulmonar impide el intercambio normal de gases a nivel del alveolar, lo cual conduce a un *shunt* intrapulmonar y un desajuste entre ventilación/perfusión (Modell *et al.*, 1974; Modell *et al.*, 1967).

Se considera que la morbilidad o mortalidad por ahogamiento puede sobrevenir al sumergir forzosamente las tortugas durante periodos de tiempo mayores al promedio de sus tiempos de inmersión fisiológica (Lutcavage and Lutz, 1997). Las tortugas marinas muestran un amplio rango de tiempos máximos de inmersión voluntaria, generalmente acotados entre 2 y 5 horas (Byles, 1988), llegando hasta las 7 horas de buceo fisiológico durante el invierno (Hochscheid *et al.*, 2005). Las inmersiones voluntarias en tortugas marinas son más prolongadas cuanto mayor es la tortuga (en cuanto a edad y tamaño) y cuanto menor es la temperatura del agua (Lutcavage and Lutz, 1997). Además, no parece haber una asociación directa entre la profundidad y la duración máxima de la inmersión. Hay que tener en cuenta que aunque los máximos intervalos de buceo fisiológico puedan ser más largos que el tiempo de calado promedio del aparejo establecido en algunos de los métodos de pesca, las tortugas que permanecen sumergidas por la fuerza experimentan respuestas fisiológicas marcadamente diferentes a las de un buceo normal (Lutcavage and Lutz, 1997; Stabenau *et al.*, 1991).

Durante el buceo fisiológico, el pH de la sangre permanece casi constante, aumenta ligeramente la presión arteriovenosa de CO_2 y la presión de O_2 disminuye, sin embargo, las tortugas siempre permanecen dentro de los límites del buceo aeróbico presentando además una gran tolerancia a la hipoxia (Lutcavage and Lutz, 1997; Lutcavage and Lutz, 1991; Lutz et al., 1980). El límite aeróbico de buceo (ADL, por sus siglas en inglés), se define como la duración máxima de buceo aeróbico antes de que se empiecen a elevar los niveles de lactato en sangre como consecuencia del agotamiento de las reservas de O_2 (Butler, 2006). En el caso de la inmersión forzada, se produce una reducción de la frecuencia cardíaca y se activa el metabolismo anaeróbico observándose una disminución del pH sanguíneo (acidosis) y pO_2 (hipoxia) y un aumento de la pCO_2 arterial (hipercapnia), del lactato, del potasio, del sodio, de la osmolalidad y de la norepinefrina (Lutz and Bentley, 1985a; Stabenau and Vietti, 2003). Durante el atrapamiento en el aparejo de pesca, a los efectos perjudiciales de la hipoxia asociada a la asfixia, hay que sumarle los efectos de un esfuerzo muscular muy intenso durante los intentos de liberación del animal. Haciendo estimaciones en base a algunas mediciones sobre el consumo de oxígeno y en base al total de las reservas de oxígeno, se calculan unos límites de buceo aeróbico (cADL o ADL calculada) de 33 y 70 minutos para una tortuga boba de 20 kg (Lutz and Bentley,

1985b) y para un adulto laúd (Lutcavage *et al.*, 1992) respectivamente. Cuando el oxígeno se consume rápidamente durante el ejercicio y no se repone, el equilibrio ácido-base es modificado por el impacto de la glucolisis anaerobia, conduciendo en algunos casos a niveles letales de hipoxia y acidosis (Lutcavage and Lutz, 1997). Así, la tolerancia a la inmersión forzada dependerá no sólo del almacenamiento de oxígeno corporal total, sino que también se verá afectada por factores intrínsecos y extrínsecos, como la tasa metabólica, el tamaño, la actividad hormonal, el estado fisiológico, la dieta y la temperatura del agua (Lutcavage and Lutz, 1991; Stabenau *et al.*, 1991). Sasso y Epperly (Sasso and Epperly, 2006) observaron en sus estudios una mayor tasa de mortalidad de las tortugas capturadas por arrastre en invierno comparado con el verano. Sugirieron que, mientras que la demanda de oxígeno puede ser superior a temperaturas más cálidas y las inmersiones voluntarias son más prolongadas a menor temperatura (Lutcavage and Lutz, 1997), quizá el estrés de las bajas temperaturas en poiquilotermos pueda provocar una reducción en la tolerancia a la inmersión forzada. Por otro lado, en este estudio de arrastre se establece que la variación de profundidad por temporada y estación del año también podría tener un cierto efecto sobre la viabilidad final de los individuos.

Está descrito que inicialmente las tortugas en inmersión forzada se debaten enérgicamente pero luego pasan a tener largos periodos de quiescencia interrumpidos por ráfagas de corta actividad (Lutz and Bentley, 1985b). En este estudio se estimó que necesitaban de hasta 24 h después de una inmersión de 90 min para normalizar gases en sangre y reducir a niveles normales las concentraciones de lactato. Con inmersiones repetidas de 7,5 min a intervalos de 10 o 24 min entre inmersiones simulando una interacción en una red de arrastre con TED (siglas en inglés de “dispositivo de exclusión de tortugas”), las tortugas requirieron de casi 3 horas de para su recuperación completa. Por su parte, los niveles plasmáticos de sodio, potasio y norepinefrina así como la osmolaridad aumentaron tras cada inmersión (Stabenau and Vietti, 2003). Por otro lado, animales sometidos a 30 minutos de arrastre (sin TEDs) en condiciones experimentales, sufrieron una marcada acidosis con un pH (corregido en base a temperatura) por debajo de 7.0 en algunos casos y niveles de lactato de hasta 20 mmol/L (Harms *et al.*, 2003). Tras 30 minutos en superficie sobre la cubierta del barco se observó una recuperación sustancial de los niveles de acidosis a través de la compensación respiratoria y las reservas de bicarbonato, pero el lactato seguía siendo muy alto requiriendo mucho más tiempo para su normalización.

Uno de los hallazgos fisiopatológicos más recientes asociados a la inmersión forzada es la miopatía de esfuerzo (o miopatía de captura). Esta fue diagnosticada por primera vez en una tortuga verde juvenil

recuperada viva a partir de una red de trasmallo que permaneció sumergida toda la noche (Phillips *et al.*, 2015). El diagnóstico se alcanzó en base a una combinación de signos clínicos incluyendo el estado ácido-base, marcadas elevaciones del lactato plasmático, elevaciones de las enzimas musculares y del potasio y la presencia de necrosis aguda de las fibras musculares en los resultados de anatomía patológica. Esta patología has sido también detectada posteriormente en otros casos de captura accidental (Parga et al., 2017). Dependiendo del grado de severidad, las tortugas afectadas pueden llegar a morir horas después de la interacción siendo por tanto también esta una posible causa de mortalidad retardada.

Hasta el momento, el ahogamiento ha sido considerado por regla general la principal consecuencia de muerte tras la inmersión forzada en varios tipos de artes de pesca (Alessandro and Antonello, 2010; Casale, 2011; Crowder *et al.*, 1994; Gerosa and Casale, 1999; Henwood and Stuntz, 1987; Lutcavage and Lutz, 1991; Poiner and Harris, 1996; Snoddy and Southwood Williard, 2010; Stabenau *et al.*, 1991)

C.2- CUADRO CLÍNICO LESIONAL

Las tortugas marinas, tras las inmersiones forzadas muestran una amplia gama de efectos clínicos que se agravan significativamente en caso de que se produzca aspiración de agua de mar. El cuadro clínico tras emerger a la superficie puede ir desde aquellas que no están aparentemente afectadas o incluso llegan a mostrar cierta hiperactividad, las que responden claramente a un estado comatoso/estuporoso o las que emergen ya muertas (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017). La aspiración de tan sólo una pequeña cantidad de agua salada ya puede inducir cambios fisiológicos que exacerban el deterioro del metabolismo de intercambio de gases. Incluso después de la reanimación, tras la aspiración siempre se requiere de un estrecho control veterinario (Wyneken *et al.*, 2006). Algunas tortugas tras la inmersión forzada pueden llegar a sufrir un serio deterioro llegando a un estado comatoso, perdiendo la sensibilidad al dolor profundo o incluso el reflejo corneal (Gilman et al., 2009). En 1989, el NMFS señaló en su informe del taller anual sobre la mortandad de tortugas marinas asociada a pesquerías, la dificultad de evaluar la viabilidad de las tortugas en estado comatoso, las cuales en muchos casos muestran una bradicardia severa y permanecen sin respiración durante períodos prolongados (Eckert et al., 1989). Por su parte, el US National Research Council (Council and Conservation, 1990) recomendó incluir a esos animales dentro de las estimaciones de mortalidad debido a la baja probabilidad de supervivencia si son devueltos al mar en esa condición.

Existen pocos cambios microscópicos o macroscópicos exclusivos de este proceso en tortugas marinas (Work and Balazs, 2002), aunque la presencia de agua o el sedimento en las vías respiratorias o intrapulmonares sí pueden llegar a considerarse como evidencia de diagnóstico presuntivo como consecuencia de la aspiración durante la inmersión forzada, siendo esta observación más frecuente en pesquerías de arrastre bentónico (Stacy *et al.*, 2016). Sin embargo algunos estudios demuestran que sólo un 32% de las tortugas ahogadas presentan patología macroscópica compatible con el ahogamiento (Work and Balazs, 2002; Work and Balazs, 2010). Entre los signos descritos más evidentes se describen la imbibición hemoglobínica de las vías respiratorias o los pulmones, presencia de espuma o agua en la tráquea o en los bronquios, atelectasia pulmonar regional y/o enfisema (Work and Balazs, 2002; Work and Balazs, 2010). Además de edema pulmonar, en el examen microscópico se pueden encontrar hemorragias y zonas desprendidas del epitelio respiratorio columnar. Se ha sugerido que la observación de los cambios macroscópicos en los pulmones o vías respiratorias de las tortugas marinas pudieran no ser tan útiles para el diagnóstico de ahogamiento como en seres humanos por presentar un laringoespasmo fisiológico durante el buceo resultando en una menor probabilidad de aspiración de agua de mar (Wolke and George, 1981; Work and Balazs, 2010).

Por otro lado, en animales que han aspirado agua de mar se pueden detectar aumentos extremos en el sodio y cloro en el plasma/suero sanguíneo y estos animales con frecuencia pueden ver su viabilidad severamente comprometida tras la suelta (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Snoddy and Southwood Williard, 2010).

C.3- DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

El examen externo del paciente, la anamnesis y la analítica sanguínea mostrando la alteración de algunos de los parámetros previamente mencionados (y muy especialmente del lactato) serían sugerentes para establecer un primer diagnóstico de inmersión forzada (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Lutz and Bentley, 1985a; Parga et al., 2017; Stabenau and Vietti, 2003). En animales que llegan vivos procedentes de las capturas accidentales donde pueda haber sospecha de aspiración de agua, se puede hacer un diagnóstico presuntivo en base a signos clínicos como presencia de roncus en la respiración o la presencia de líquido espumoso saliendo por la boca y/o narinas especialmente si el animal está colocado con la cabeza ligeramente hacia abajo en un plano inclinado con un ángulo de 45 a 90 grados (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

La salida de líquidos desde el aparato respiratorio puede ser aún más evidente si nos ayudamos de la intubación endotraqueal. También es compatible con la aspiración de agua, la imagen radiológica pulmonar de retícula o "en panal de abejas" (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) e specialmente evidente en proyección dorso-ventral (DV) y en las secciones tomográficas del plumón. (Parga et al., 2017).

La presencia de estos signos clínicos en un contexto adecuado sí se puede considerar sugerentes de ahogamiento por inmersión forzada pero su ausencia no excluye el ahogamiento. Hay que tener en cuenta que estos hallazgos de espuma o liquido en vías respiratorias pueden además desaparecer *post mortem* con los primeros signos de putrefacción (Lunetta and Modell, 2005).

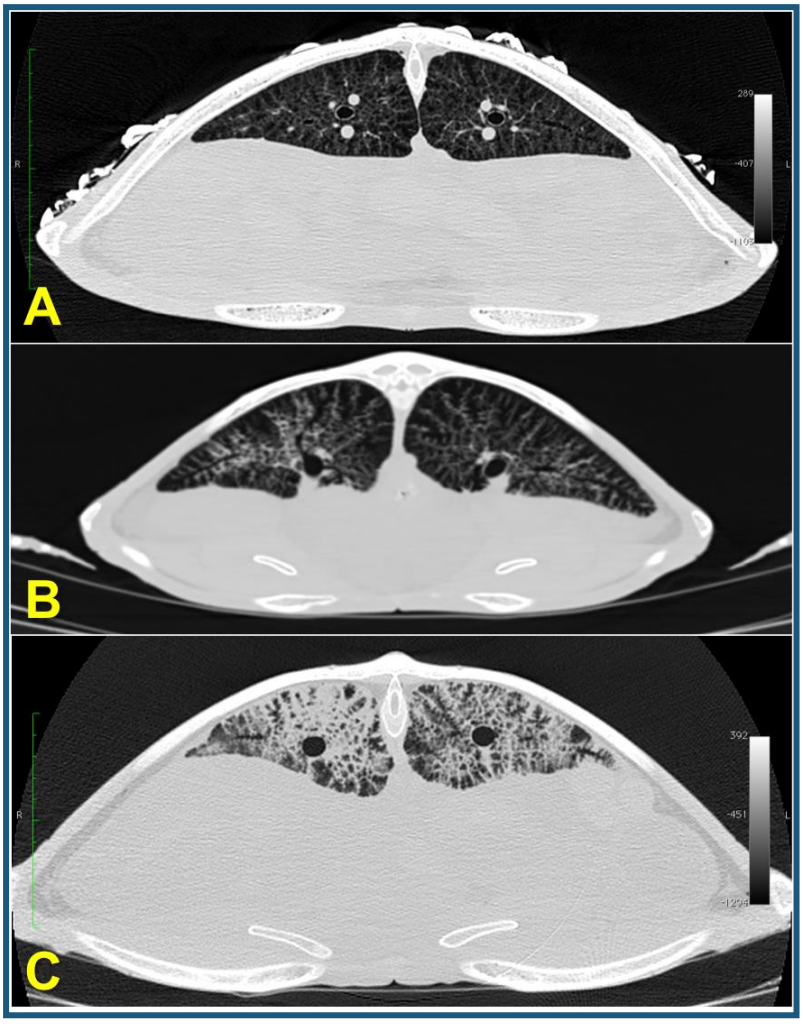


Figura 10: Imágenes tomográficas trasversales de 3 tortugas diferentes para la evaluación del campo pulmonar. A. Animal sin patología pulmonar evidente. B. Aspiración moderada de agua con incremento de la intensidad a nivel trabecular en algunas regiones del pulmón derecho. C. Animal con marcado edema pulmonar e incremento de la densidad del campo pulmonar como consecuencia de la aspiración de agua marina y edema asociado.

Existen algunos protocolos y recomendaciones de aplicación a bordo para la resucitación de tortugas comatosas o letárgicas recuperadas del aparejo de pesca (Epperly et al., 2004; Stokes and Bergmann, 2019). Las tortugas se pueden colocar en un plano inclinado con la cabeza por debajo de la cola a unos 15 - 30 grados, reposando sobre su plastrón, permitiendo que el posible líquido aspirado drene a través de las vías respiratorias. Es importante mantener los animales a la sombra, a una temperatura similar a la temperatura del agua, humedeciéndolas y supervisando periódicamente su capacidad de respuesta y reflejos. Actualmente en ningún caso se recomienda voltear la tortuga sobre su caparazón y presionar sobre su plastrón ya que puede causar daños mayores. Sin embargo, la maniobra de extender y comprimir rítmicamente las aletas delanteras dentro del caparazón en un movimiento similar al de natación sí puede facilitar algo la circulación y ventilación pasiva (Parga et al., 2017). En USA, los barcos de pesca pueden mantener las tortugas a bordo hasta 24 h con el fin de proceder a su resucitación, periodo tras el cual se consideran resucitados o muertos de cara a su registro y pueden ser devueltos al agua.

En el caso de que las tortugas capturadas accidentalmente se pudiesen llevar a un CR, se recomienda la medida de electrolitos y gasometría con el fin de poder aplicar una fluidoterapia específica, y en caso necesario, incluyendo bicarbonato de sodio para compensar la acidosis severa. La aplicación de oxígeno puro mediante mascarilla, en un contenedor o a través de la intubación y ventilación con ambú o con ventilador automático, puede mejorar la oxigenación tisular y promover la compensación respiratoria de la acidosis. La estimulación del punto de acupuntura GV26 (en el philtrum nasal) con una aguja hipodérmica puede contribuir al éxito de la resucitación (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019). El tratamiento con antibióticos de amplio espectro es recomendable si se sospecha de aspiración de agua. Si el paciente está suficientemente alerta y receptivo se beneficiará de poder estar en el agua en vez de en seco, siempre que esté en una zona segura y controlada, con el fin de resolver más rápidamente la acidosis láctica (Hoopes et al., 2000).

E – LA ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA

A título introductorio se ha considerado incluir en este apartado los aspectos más relevantes sobre el conocimiento actual de la enfermedad tanto en seres humanos como en otras especies animales.

E.1- DESCRIPCIÓN Y ANTECEDENTES

La enfermedad descompresiva (también llamada DCS por sus siglas en inglés, enfermedad del buzo, la enfermedad de Caisson o "*the bends*") es un cuadro clínico-diagnóstico que abarca una amplia gama de manifestaciones relacionadas con la formación de burbujas de gas en el organismo como consecuencia del fenómeno de sobresaturación que acontece en los tejidos tras un fenómeno de descompresión (Barratt *et al.*, 2002; Francis and Mitchell, 2003). En medicina humana, las manifestaciones clínicas van desde leves hasta la muerte, y frecuentemente implican síntomas neurológicos y musculoesqueléticos que cursan con dolor (Francis and Simon, 2003; Vann *et al.*, 2011), entre otros dolor articular y de ahí su nombre en inglés "*the bends*" por el dolor que surge al mover los miembros flexionando las extremidades. La gran cantidad de síntomas con los que cursa esta enfermedad son causados directa o indirectamente por los daños mecánicos que inducen las burbujas de gas al expandirse, el embolismo que lleva a la isquemia y falta de perfusión regional y los efectos bioquímicos que ocasionan las burbujas intravasculares y extravasculares en los tejidos (Levett and Millar, 2008; Vann et al., 2011). Los efectos directos incluyen la distorsión y pérdida de arquitectura normal de los tejidos y obstrucciones vasculares, mientras que los efectos secundarios incluyen daño endotelial, agregación plaquetaria, activación de la cascada de la coagulación (conduciendo a una coagulación intravascular diseminada), activación del complemento y del sistema inmunológico, fuga capilar, extravasación de plasma, y hemoconcentración (Francis and Mitchell, 2003; Levett and Millar, 2008; Mahon and Regis, 2014a; Vann et al., 2011). El diagnóstico definitivo de la DCS es complejo y sólo se confirma por el éxito en la respuesta al tratamiento de recompresión en una cámara hiperbárica (Ferrigno and Lundgren, 2003).

El disbarismo se refiere a cualquier estado patológico resultante de la variación en la presión ambiental. En el caso de las especies acuáticas, estos cambios de presión están generalmente asociados con rápidos movimientos verticales a través de la columna de agua. Las complicaciones asociadas con los cambios de presión en buceadores humanos son fundamentalmente: barotrauma, DCS, narcosis por

nitrógeno, y síndrome nervioso de alta presión. De estas cuatro entidades patológicas, sólo la DCS y el barotrauma se han descrito en especies acuáticas.

Por efecto de la Ley de Boyle, la presión repercute sobre aquellos espacios y cavidades corporales llenos de gas. Boyle afirma que en sistemas cerrados pero compresibles, la presión y el volumen del gas son inversamente proporcionales. El barotrauma se refiere a las lesiones causadas por el efecto que tiene la ley de Boyle en estos espacios causando la deformación mecánica y el trauma tisular durante el ascenso (como consecuencia de la expansión del gas) o durante la bajada (a través de la compresión de gas).

Por su parte, la Ley de Henry afirma que la cantidad de gas disuelto en un líquido es proporcional a la presión parcial del gas. Durante el descenso a profundidad, el aumento de presión produce un aumento en la solubilidad de los gases dentro del cuerpo y, la sangre y los tejidos, pueden absorber mayores concentraciones de gas al estar comprimidos. A diferencia del O_2 y el CO_2, el N_2 se comporta como un gas inerte que no se metaboliza ni reacciona con los compuestos orgánicos, sino que permanece disuelto e inactivo en el plasma y los tejidos. Durante el ascenso, cuando la tensión del gas disuelto excede la capacidad de solubilidad en la sangre o tejidos, se produce un fenómeno de sobresaturación y el gas puede salirse de la solución (hacerse insoluble) y formar burbujas. En los modelos de estudio con mamíferos terrestres, el riesgo de DCS se correlaciona con la profundidad (presión) de buceo, tiempo de buceo en profundidad (duración), tasa de ascenso (velocidad a la que se reducción de presión), temperatura y variaciones alométricas en gasto cardíaco (Fahlman, 2017; Gerth et al., 2007; Lillo et al., 2002; Mahon and Regis, 2014a).

Conceptualmente, es crucial diferenciar el EG y la DCS. El primero consiste en la presencia de burbujas de gas en el interior de los vasos sanguíneos, mientras que la DCS, por definición, son los casos sintomáticos de EG asociados con una situación de descompresión y que remiten ante la terapia de recompresión. La red alveolo capilar del pulmón tiene cierta capacidad de actuar como filtro de burbujas evitando que se produzca sintomatología en los casos iniciales de embolismo (burbujas silenciosas) (Butler and Katz, 1988). Si bien la relación entre EG y DCS no es “directa” o “lineal” sí que se ha demostrado que a mayor grado de EG (también considerado como signo de estrés descompresivo), hay una mayor probabilidad de desarrollar DCS (Gawthrope et al., 2015). El EG ha sido documentado en cierta variedad de especies, pero hasta el momento no existía ningún informe evidenciando la presencia de DCS en vertebrados marinos, siendo descrito por primera vez por nuestro equipo en tortugas bobas (Garcia-Parraga *et al.*, 2014).

E.2- ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA EN VERTEBRADOS BUCEADORES

El EG compatible con DCS en vertebrados buceadores fue descrito por primera vez en cetáceos (Fernandez et al., 2005; Jepson et al., 2003). Estos trabajos fueron decisivos a la hora de poder llegar a las conclusiones obtenidas en el presente estudio con tortugas, por lo que a continuación se profundiza en ellos.

En 2003 y posteriormente en 2005 se describieron por primera vez por el Prof. Fernández y su equipo de patólogos de la ULPGC, lesiones sistémicas agudas de embolismo graso y gaseoso muy similares a las observadas en humanos, asociadas al síndrome descompresivo en diferentes varamientos de zifios en las Islas Canarias. Los varamientos que presentaban estas lesiones además coincidían en el espacio y en el tiempo con la realización de maniobras militares que empleaban el uso de sonar antisubmarinos en la zona (Fernandez *et al.*, 2005; Jepson *et al.*, 2003). Desde estos primeros estudios, se fueron generando nuevos trabajos que aportaron una mayor evidencia científica sobre la posibilidad de formación de burbujas de gas asociadas al buceo en mamíferos marinos. Inicialmente se incluyó también la presencia de una posible osteonecrosis disbárica en cachalotes a principios de 2004 (Moore and Early, 2004). Más adelante se describió el EG en otros cetáceos varados muertos (Jepson et al., 2005). A continuación, se describió el EG (probablemente *peri o post mortem*) asociado a la captura accidental de cetáceos y pinnípedos (Bernaldo de Quirós et al., 2012; Bernaldo de Quirós et al., 2018; Moore et al., 2009). Posteriormente se describieron los primeros casos de EG en algunos cetáceos varados vivos (Dennison et al., 2012). Por último y más recientemente, también se han llegado a describir casos de EG compatible con DCS en cetáceos varados presumiblemente por causas naturales (Fernández et al., 2017). Todos estos estudios evidenciaban de alguna manera la posibilidad de que, al menos los mamíferos marinos, pudiesen llegar a descomprimirse ante determinadas circunstancias acontecidas durante el buceo, no estando por tanto totalmente protegidos ante esta enfermedad.

Sin embargo, aunque ya los primeros hallazgos realizados hace ya más de 15 años pusieron en tela de juicio nuestra comprensión de la fisiología del buceo en vertebrados buceadores, no se pudieron obtener datos clínicos confirmatorios basados en un diagnóstico y tratamiento "*in vivo*" de la DCS debido a la complejidad del trabajo con los mamíferos marinos. Por definición, la DCS es una entidad clínica que se diagnostica por la presencia de una serie de síntomas o lesiones que acontecen asociados a un fenómeno descompresivo y que remiten clínicamente con la recompresión (tratamiento hiperbárico). La principal limitación al diagnóstico confirmatorio por respuesta al tratamiento es que este tipo de terapia es prácticamente inviable de aplicar en mamíferos marinos si se plantea como la

única vía para poder confirmar la presencia de esta enfermedad en estos animales. Las tortugas marinas en este sentido, siendo más resistentes a la enfermedad y sobre todo mucho más fáciles de manejar y tratar, abrirían una nueva puerta para su investigación.

E.3– EL COLAPSO ALVEOLAR PASIVO COMO PRINCIPAL MECANISMO PROTECTOR FRENTE A LA DCS

Fue inicialmente Scholander (Scholander, 1940) quien propuso que la compresión pasiva diferencial del alvéolo de los vertebrados buceadores (con una elevada complianza) asociada a la rigidez de las vías respiratorias reforzadas en cartílago tendría como resultado del buceo el cese del intercambio gaseoso, impidiendo la absorción de nitrógeno y reduciendo el riesgo de EG y DCS asociada. Hasta hace poco, este modelo de colapso alveolar por compresión pulmonar ha sido la principal hipótesis de trabajo en referencia a cómo mamíferos marinos y tortugas evitarían la excesiva absorción de nitrógeno y las complicaciones típicas asociadas al buceo, incluyendo la DCS y la narcosis por nitrógeno. Sin embargo, esta teoría no explicaría cómo prevenir la excesiva absorción de nitrógeno durante las inmersiones más superficiales donde no se alcanza el colapso alveolar completo.

Uno de los mecanismos alternativos implicaría cambios en el gasto cardiaco (Q) el cual generaría alteraciones en el intercambio de nitrógeno (Ponganis *et al.*, 1999). De hecho, los estudios en base a modelos teóricos coinciden en que la variación en el flujo sanguíneo y la distribución de la perfusión tendría un efecto marcado en los niveles de nitrógeno en sangre y tejidos (Fahlman *et al.*, 2006; Fahlman *et al.*, 2007; Hooker *et al.*, 2009).

La profundidad efectiva de colapso alveolar está afectada por las propiedades estructurales del sistema respiratorio, y la relación entre el espacio muerto de la vía respiratoria y el volumen alveolar y por consiguiente el volumen total pulmonar durante el buceo (Bostrom *et al.*, 2008; Fahlman *et al.*, 2009; Scholander, 1940). Las especies buceadoras de profundidad cuentan con un volumen pulmonar relativamente menor en proporción a su tamaño corporal cuando se comparan con especies de buceo superficial. Se cree que estas características tratan de reducir la absorción de nitrógeno y el riesgo de EG (Kooyman, 1973; Kooyman, 1989). La profundidad de la inspiración voluntaria inicial previa al buceo podría ajustar el volumen pulmonar de oxígeno almacenado en el compartimento pulmonar pero también minimizar la absorción de nitrógeno y por lo tanto el riesgo de EG (Fahlman *et al.*, 2009; Hooker *et al.*, 2005; McDonald and Ponganis, 2012). La variación individual en tales ajustes implicaría diferencias

importantes en la profundidad de colapso alveolar y, por lo tanto, en el riesgo potencial de sufrir DCS en caso de modificación del comportamiento (Fahlman et al., 2017b).

El grado de *shunt* pulmonar, probablemente aumenta con la profundidad a través de la compresión del pulmón como se ha demostrado experimentalmente (Kooyman and Sinnett, 1982) y se ha predicho en base a modelos teóricos (Bostrom *et al.*, 2008; Fahlman *et al.*, 2009; Fahlman *et al.*, 2006). Los estudios de modelización han demostrado cómo las estimaciones teóricas pueden aportar ideas útiles en sistemas fisiológicos complejos, donde la variabilidad de ciertos resultados obtenidos en diferentes estudios puede explicarse sobre la base de una única teoría que los unifica (Falke *et al.*, 1985; Hodanbosi *et al.*, 2016; Hooker and Fahlman, 2015; Kooyman *et al.*, 1972; McDonald and Ponganis, 2012; Ridgway and Howard, 1979; Ridgway *et al.*, 1969; Scholander, 1940). Sin embargo, es importante tener en cuenta que los resultados de estos constructos teóricos, tales como la estimación de la disolución y distribución de gases en sangre y en los tejidos durante el buceo, están muy limitados por la escasa disponibilidad de información básica fiable sobre los diferentes parámetros cardiorrespiratorios en las diferentes especies.

En mamíferos marinos, la presencia de EG en ejemplares capturados accidentalmente en redes de pesca en profundidad se han considerado una prueba fehaciente de la presencia de una sobresaturación de nitrógeno en sangre durante el buceo (Moore et al., 2009), similares a los resultados observados por Kooyman en su cámara de presión hace casi 50 años (Kooyman, 1973; Kooyman et al., 1972). Sin embargo, a lo largo de este trabajo veremos que al menos en las tortugas, la situación de enmallamiento en los artes de pesca no necesariamente reflejan lo que ocurre durante el buceo fisiológico rutinario. Veremos como las tortugas marinas pescadas accidentalmente pueden mostrar signos de DCS después del atrapamiento incluso a menores profundidades, durante tiempos más cortos de inmersión y con tasas de ascenso más lentas que los límites normales que pueden tener lugar durante las inmersiones naturales (Byles, 1988; Hochscheid et al., 2005).

En base al conocimiento actual, los modelos teóricos complejos de compresión todavía son incapaces de explicar cómo los mamíferos marinos y por ende muchos otros vertebrados buceadores, evitan la DCS suponiendo que la compresión pasiva del sistema respiratorio mediada por la presión hidrostática sea el principal mecanismo para lograr el colapso alveolar completo y por tanto el cese del intercambio gaseoso a nivel pulmonar (Hooker *et al.*, 2009; Zimmer and Tyack, 2007). Las tensiones de nitrógeno estimadas al final de las secuencias de inmersión en diferentes especies de vertebrados marinos en base a los modelos actuales sugieren que la probabilidad de sufrir lesiones graves asociadas a DCS sería del 50% o

más (**Figura 11**) (Hooker et al., 2009). Así, y en base a estos modelos podríamos suponer que existen adaptaciones durante el buceo fisiológico que aun desconocemos y muy probablemente mecanismos encaminados a reducir la captación de nitrógeno en sangre impidiendo alcanzar los niveles de nitrógeno que se estimarían en sangre y tejidos en base a los modelos actuales.

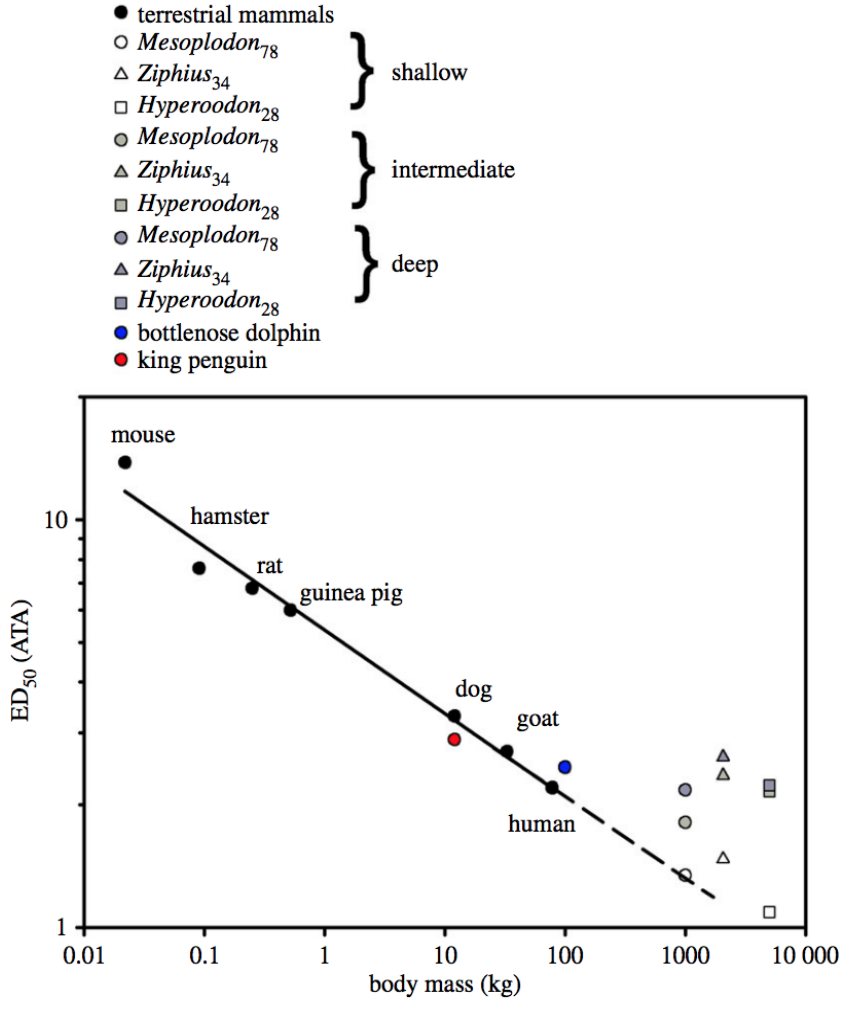


Figura 11: Grafico donde se representa el logaritmo del peso metabólico promedio de las diferentes especies (logMb)(kg) frente al logaritmo del valor medio de la presión venosa de nitrógeno (PvN_2) que causa síndrome descompresivo severo en el 50% de los pacientes tras una rápida descompresión (logED50). En el modelo se incluyen un amplio rango de especies tanto terrestres como buceadoras en base a datos experimentales y modelos matemáticos. La línea recta indica el mejor ajuste para la mayoría de las especies enfrentando el logED50 al logMb. Nótese como PvN_2 al final del buceo para el caso de los mamíferos marinos (representados en color gris) se encuentra muy por encima de la línea que marca la ED50 según el modelo predictivo de colapso alveolar por compresión hidrostática, lo que indicaría que deben existir mecanismos alternativos para minimizar la absorción de nitrógeno. Fuente: (Hooker et al., 2009)

Gracias al presente trabajo realizado con las tortugas y sobre la base de diversos estudios en mamíferos marinos recogidos en la bibliografía, recientemente se propuso desde nuestro equipo de investigación una nueva alternativa sobre cómo los cetáceos y otros vertebrados buceadores podrían evitar la DCS haciendo un *shunt* pulmonar funcional a través de la alteración de la ventilación (V) y la perfusión (Q) alveolar, pero facilitando un cierto intercambio selectivo de gases (principalmente O_2 y CO_2) durante el buceo (García-Párraga et al., 2018b). Este mecanismo puede de hecho ayudar a explicar cómo las perturbaciones generadas por eventos estresantes en animales buceadores podrían causar el fallo de estos mecanismos, dando lugar a EG e incluso DCS.

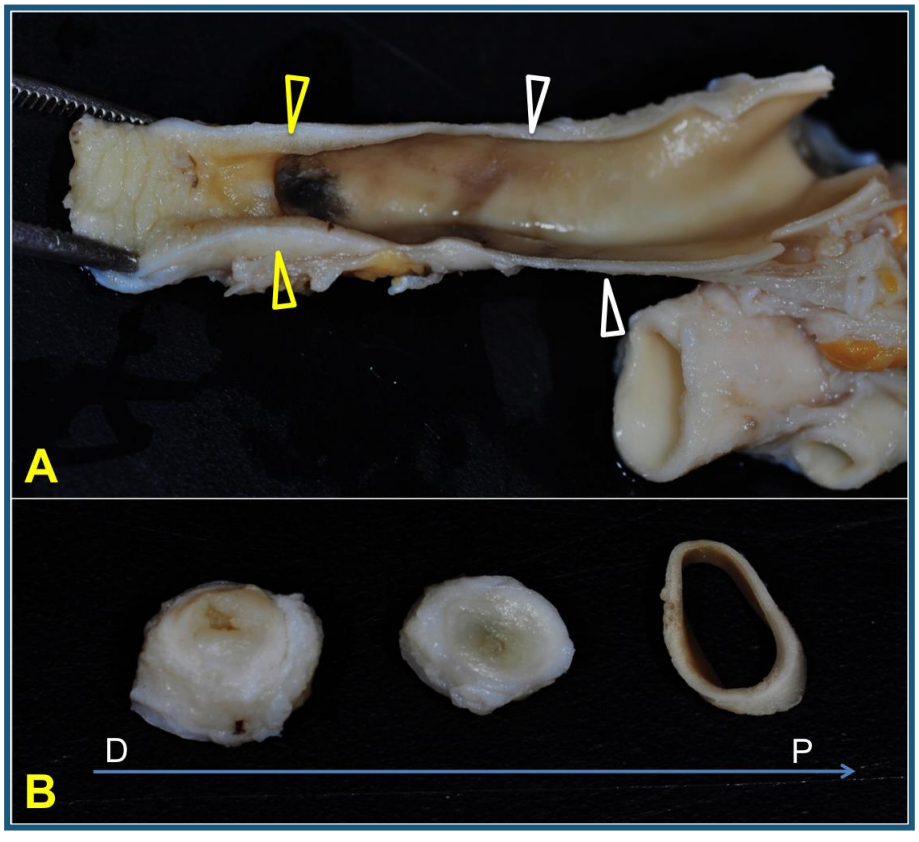


Figura 12: Anatomía de los esfínteres de las arterias pulmonares en tortugas marinas. Mitad proximal de la porción extrapulmonar de las arterias tras su salida del tronco pulmonar. La porción más distal se encuentra a la izquierda de la imagen mientras que la porción proximal está a la derecha. A. Sección longitudinal del vaso mostrando el engrosamiento de su pared en la aproximación al tercio medio de la región extrapulmonar. Cerca de la base del corazón la arteria es mucho más fina y elástica (flechas blancas) que en su porción más distal donde la pared muscular es mucho más gruesa y el endotelio forma pliegues marcados. B. En la sección transversal del vaso fijado con formol podemos observar como en la región más distal se produce una oclusión total de la luz vascular como consecuencia de la retracción de la musculatura lisa.

Tratando de elucidar el mecanismo fisiopatológico de la descompresión en estos animales, se investigaron también las características anatómicas y funcionales de la vasculatura arterial pulmonar (y muy especialmente de los esfínteres de las arterias pulmonares), así como del parénquima pulmonar que podría aclarar la fisiopatología de EG en las tortugas marinas, siendo este estudio el objeto de otro trabajo de Tesis y de una publicación científica (García-Párraga et al., 2018a).

Los resultados con tortugas y los del trabajo en curso sobre la función pulmonar de mamíferos marinos, han dado lugar, como complemento de esta tesis, a una nueva hipótesis que comentaremos en la discusión final. Esta teoría, creemos que podría explicar cómo los mamíferos marinos y las tortugas consiguen gestionar los diferentes gases durante el buceo, y cómo el fracaso de estos mecanismos (ya sea por causas antropogénicas o por ciertas perturbaciones naturales) podrían alterar el intercambio de gases y aumentar el riesgo de DCS.

F – BIBLIOGRAFÍA

Alessandro, L., and S. Antonello. 2010. An overview of loggerhead sea turtle (Caretta caretta) bycatch and technical mitigation measures in the Mediterranean Sea. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20:141-161.

Álvarez de Quevedo, I., L. Cardona, A. De Haro, E. Pubill, and A. Aguilar. 2010. Sources of bycatch of loggerhead sea turtles in the western Mediterranean other than drifting longlines. *ICES Journal of Marine Science* 67:677-685.

Arthur, K.E., M.C. Boyle, and C.J. Limpus. 2008. Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (Chelonia mydas) life history. *Marine Ecology Progress Series* 362:303-311.

Barratt, D.M., P.G. Harch, and K. Van Meter. 2002. Decompression illness in divers: a review of the literature. *The Neurologist* 8:186-202.

Berkson, H. 1967. Physiological adjustments to deep diving in the pacific green turtle (Chelonia mydas agassizzii). *Comparative Biochemistry and Physiology* 21:507-524.

Bernaldo de Quirós, Y., O. Gonzales-Diaz, M. Arbelo, E. Sierra, S. Sacchini, and A. Fernández. 2012. Decompression versus decomposition: distribution, quantity and gas composition of bubbles in stranded marine mammals. . *Frontiers in Physiology* 3:1-19.

Bernaldo de Quirós, Y., M. Hartwick, D.S. Rotstein, M.M. Garner, A. Bogomolni, W. Greer, M.E. Niemeyer, G. Early, F. Wenzel, and M. Moore. 2018. Discrimination between bycatch and other causes of cetacean and pinniped stranding. *Diseases of aquatic organisms* 127:83-95.

Bostrom, B.L., A. Fahlman, and D.R. Jones. 2008. Tracheal compression delays alveolar collapse during deep diving in marine mammals. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 161:298-305.

Burggren, W. 1977. The pulmonary circulation of the chelonian reptile: morphology, pharmacology and haemodynamics. *Journal of Comparative Physiology* 116:303-323.

Burggren, W., R. Filogonio, and T. Wang. 2020. Cardiovascular shunting in vertebrates: a practical integration of competing hypotheses. *Biological Reviews* 95:449-471.

Butler, B., and J. Katz. 1988. Vascular pressures and passage of gas emboli through the pulmonary circulation. *Undersea biomedical research* 15:203-209.

Butler, P.J. 2006. Aerobic dive limit. What is it and is it always used appropriately? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 145:1-6.

Byles, R.A. 1988. Behavior and Ecology of Sea Turtles from Chesapeake Bay, Virginia. In College of William and Mary, Williamsburg, VA, USA.

Casale, P. 2011. Sea turtle by-catch in the Mediterranean. *Fish and Fisheries* 12:299-316.

Casale, P., G. Abbate, D. Freggi, N. Conte, M. Oliverio, and R. Argano. 2008. Foraging ecology of loggerhead sea turtles Caretta caretta in the central Mediterranean Sea: evidence for a relaxed life history model. *Marine Ecology Progress Series* 372:265-276.

Casale, P., L. Laurent, and G. De Metrio. 2004. Incidental capture of marine turtles by the Italian trawl fishery in the north Adriatic Sea. *Biological conservation* 119:287-295.

Castellini, M. 2012. Life Under Water: Physiological Adaptations to Diving and Living at Sea. *Comprehensive Physiology* 2:1889-1919.

Chaloupka, M., D. Parker, and G. Balazs. 2004. Modelling post-release mortality of loggerhead sea turtles exposed to the Hawaii-based pelagic longline fishery. *Marine Ecology Progress Series* 280:285-293.

Council, N.R., and C.o.S.T. Conservation. 1990. Decline of the sea turtles: causes and prevention. National Academies Press, Washington DC.

Crespo-Picazo, J.L., M. Parga, Y. Bernaldo de Quirós, D. Monteiro, V. Marco-Cabedo, C. Llopis-Belenguer, and D. García-Párraga. 2020. Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species. *Frontiers in Marine Science* 7:

Crowder, L.B., D.T. Crouse, S.S. Heppell, and T.H. Martin. 1994. Predicting the impact of turtle excluder devices on loggerhead sea turtle populations. *Ecological applications* 4:437-445.

Dennison, S., M.J. Moore, A. Fahlman, K. Moore, S. Sharp, C.T. Harry, J. Hoppe, M. Niemeyer, B. Lentell, and R.S. Wells. 2012. Bubbles in live-stranded dolphins. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279:1396-1404.

Dodge, K.L., J.M. Logan, and M.E. Lutcavage. 2011. Foraging ecology of leatherback sea turtles in the Western North Atlantic determined through multi-tissue stable isotope analyses. *Marine Biology* 158:2813-2824.

Duncker, H.-R. 2004. Vertebrate lungs: structure, topography and mechanics: A comparative perspective of the progressive integration of respiratory system, locomotor apparatus and ontogenetic development. *Respiratory physiology & neurobiology* 144:111-124.

Eckert, S.A., K.L. Eckert, and T.H. Richardson. 1989. Proceedings of the Ninth Annual Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology. In NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-23. Jekyll Island, Georgia. 306

Epperly, S., L. Avens, L. Garrison, T. Henwood, W. Hoggard, J. Mitchell, J. Nance, J. Poffenberger, C. Sasso, E. Scott-Denton, and C. Yeung. 2002. Anaylis of sea turtle bycatch in the commercial shrimp fisheries of southeast US waters and the Gulf of Mexico. In Department of Commerce NOAA Technical Memorandum 88.

Epperly, S., L. Stokes, and S. Dick. 2004. Careful release protocols for sea turtle release with minimal injury. In US Department of Commerce, NOAA fisheries, Miami, Florida, USA. 42.

Fahlman, A. 2017. Allometric scaling of decompression sickness risk in terrestrial mammals; cardiac output explains risk of decompression sickness. *Scientific Reports* 7:1-9.

Fahlman, A., J.L. Crespo-Picazo, B. Sterba-Boatwright, B.A. Stacy, and D. Garcia-Parraga. 2017a. Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in trawls and gillnets. *Scientific reports* 7:1-7.

Fahlman, A., S.K. Hooker, A. Olszowka, B.L. Bostrom, and D.R. Jones. 2009. Estimating the effect of lung collapse and pulmonary shunt on gas exchange during breath-hold diving: the Scholander and Kooyman legacy *Respiratory Physiology & Neurobiology* 165:28-39.

Fahlman, A., M.J. Moore, and D. Garcia-Parraga. 2017b. Respiratory function and mechanics in pinnipeds and cetaceans. *Journal of Experimental Biology* 220:1761-1773.

Fahlman, A., A. Olszowka, B. Bostrom, and D.R. Jones. 2006. Deep diving mammals: Dive behavior and circulatory adjustments contribute to bends avoidance. *Respiratory Physiology and Neurobiology* 153:66-77.

Fahlman, A., A. Schmidt, D.R. Jones, B.L. Bostrom, and Y. Handrich. 2007. To what extent does N_2 limit dive performance in king penguins? *Journal of Experimental Biology* 210:3344-3355.

Falke, K.J., R.D. Hill, J. Qvist, R.C. Schneider, M. Guppy, G.C. Liggins, P.W. Hochachka, R.E. Elliot, and W.M. Zapol. 1985. Seal lung collapse during free diving: evidence from arterial nitrogen tensions. *Science* 229:556-557.

Fernandez, A., J.F. Edwards, F. Rodriguez, A.E. de los Monteros, P. Herraez, P. Castro, J.R. Jaber, V. Martin, and M. Arbelo. 2005. "Gas and fat embolic syndrome" involving a mass stranding of beaked whales (Family Ziphiidae) exposed to anthropogenic sonar signals. *Veterinary Pathology* 42:446-457.

Fernández, A., E. Sierra, J. Díaz-Delgado, S. Sacchini, Y. Sánchez-Paz, C. Suárez-Santana, M. Arregui, M. Arbelo, and Y.B. de Quirós. 2017. Deadly acute Decompression Sickness in Risso's dolphins. *Scientific Reports* 7:1-9.

Ferrigno, M., and C.E.G. Lundgren. 2003. Breath-Hold Diving. In Physiology and Medicine of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 153-180.

Finkbeiner, E.M., B.P. Wallace, J.E. Moore, R.L. Lewison, L.B. Crowder, and A.J. Read. 2011. Cumulative estimates of sea turtle bycatch and mortality in USA fisheries between 1990 and 2007. *Biological Conservation* 144:2719-2727.

Fossette, S., A.C. Gleiss, A.E. Myers, S. Garner, N. Liebsch, N.M. Whitney, G.C. Hays, R.P. Wilson, and M.E. Lutcavage. 2010. Behaviour and buoyancy regulation in the deepest-diving reptile: the leatherback turtle. *Journal of Experimental Biology* 213:4074-4083.

Francis, T.J.R., and S.J. Mitchell. 2003. Manifestations of decompression disorders. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 578-599.

Francis, T.J.R., and J.M. Simon. 2003. Pathology of Decompression Sickness. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 530-556.

García-Párraga, D., and J.L. Crespo-Picazo. 2019. Decompression Medicine in Aquatic Species (Fish and Sea Turtle Focus). In Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9. Elsevier, 345-355.

García-Párraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y. Bernaldo de Quirós, V. Cervera, L. Martí-Bonmati, J. Díaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernández. 2014. Decompression Sickness ("the bends") in Sea Turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 111:191-205.

Garcia-Parraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y.B. de Quiros, V. Cervera, L. Marti-Bonmati, J. Diaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernandez. 2014. Decompression sickness ('the bends') in sea turtles. *Dis Aquat Organ* 111:191-205.

García-Párraga, D., T. Lorenzo, T. Wang, J.-L. Ortiz, J. Ortega, J.-L. Crespo-Picazo, J. Cortijo, and A. Fahlman. 2018a. Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Journal of Experimental Biology* 221:jeb179820.

García-Párraga, D., M. Moore, and A. Fahlman. 2018b. Pulmonary ventilation– perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. *Proceedings Royal Society B* 285:20180482.

Garcia-Parraga, D., A.L.S. Valente, B.A. Stacy, and J. Wyneken. 2017. Cardiovascular System. In Sea Turtle Health and Rehabilitation. C.A. Manire, T.M. Norton, B.A. Stacy, C.A. Harms, and C.J. Innis, editors. 295-320.

Gawthrope, I.C., M. Summers, D.J. Macey, and D.A. Playford. 2015. An observation of venous gas emboli in divers and susceptibility to decompression sickness. *Diving Hyperb Med* 45:25-28.

Gerosa, G., and M. Aureggi. 2005. Guía para Pescadores sobre el Manejo de las Tortugas Marinas Manual del Profesor. *Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Plan de Acción del Mediterráneo Centro de Actividad Regional para Zonas Especialmente Protegidas. CHELON-Programa de Investigación y Conservación de las Tortugas Marinas. Túnez Cedex–Tunicia. 50p*

Gerosa, G., and P. Casale. 1999. Interaction of marine turtles with fisheries in the Mediterranean. Mediterranean action plan. UNEP; Regional Activity Centre for Specially Protected Areas (RAC/SPA), Tunis, Tunisia.

Gerth, W.A., V.L. Ruterbusch, and E.T. Long. 2007. The influence of thermal exposure on diver susceptibility to decompression sickness. In NavSea, Panama City, FL.

Giammona, S.T., and J.H. Modell. 1967. Drowning by total immersion: effects on pulmonary surfactant of distilled water, isotonic saline, and sea water. *American Journal of Diseases of Children* 114:612-616.

Gilman, E., G. Bianchi, and C. Attwood. 2009. Guidelines to reduce sea turtle mortality in fishing operations. FAO,

Gilman, E., J. Gearhart, B. Price, S. Eckert, H. Milliken, J. Wang, Y. Swimmer, D. Shiode, O. Abe, S.H. Peckham, M. Chaloupka, M. Hall, J. Mangel, J. Alfaro-Shigueto, P. Dalzell, and A. Ishizaki. 2010. Mitigating sea turtle by-catch in coastal passive net fisheries. *Fish and Fisheries* 11:57-88.

Greer, A.E., J.D. LAZELL, and R.M. WRIGHT. 1973. Anatomical evidence for a counter-current heat exchanger in the leatherback turtle (Dermochelys coriacea). *Nature* 244:181-181.

Hamann, M., M.H. Godfrey, J.A. Seminoff, K. Arthur, P.C.R. Barata, K.A. Bjorndal, A.B. Bolten, A.C. Broderick, L.M. Campbell, C. Carreras, P. Casale, M. Chaloupka, S.K.F. Chan, M.S. Coyne, L.B. Crowder, C.E. Diez, P.H. Dutton, S.P. Epperly, N.N. FitzSimmons, A. Formia, M. Girondot, G.C. Hays, I.S. Cheng, Y. Kaska, R. Lewison, J.A. Mortimer, W.J. Nichols, R.D. Reina, K. Shanker, J.R. Spotila, J. Tomás, B.P. Wallace, T.M. Work, J. Zbinden, and B.J. Godley. 2010. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. *Endangered Species Research* 11:245-269.

Harms, C.A., S.M. Boylan, B.A. Stacy, J.F. Beasley, D. García-Párraga, and M.H. Godfrey. 2020. Gas embolism and massive blunt force trauma to sea turtles entrained in hopper dredges in North and South Carolina, USA. *Diseases of Aquatic Organisms* 142:189-196.

Harms, C.A., K.M. Mallo, P.M. Ross, and A. Segars. 2003. Venous blood gases and lactates of wild loggerhead sea turtles (Caretta caretta) following two capture techniques. *Journal of Wildlife Diseases* 39:366-374.

Henwood, T.A., and W.E. Stuntz. 1987. Analysis of sea turtles captures and mortalities during commercial shrimp trawling. *Fishery Bulletin* 85:813-817.

Hicks, J., and S. Comeau. 1994. Vagal regulation of intracardiac shunting in the turtle *Pseudemys scripta*. *Journal of Experimental Biology* 186:109-126.

Hicks, J.W., and T. Wang. 1996. Functional role of cardiac shunts in reptiles. *Journal of Experimental Zoology* 275:204-216.

Hochscheid, S., F. Bentivegna, M.N. Bradai, and G.C. Hays. 2007. Overwintering behaviour in sea turtles: dormancy is optional. *Marine Ecology Progress Series* 340:287-298.

Hochscheid, S., F. Bentivegna, and G.C. Hays. 2005. First records of dive durations for a hibernating sea turtle. *Biology letters* 1:82-86.

Hodanbosi, M., B. Sterba-Boatwright, and A. Fahlman. 2016. Updating a gas dynamics model using estimates for California sea lions (*Zalophus californianus*). *Respiratory Physiology & Neurobiology* 234:1-8.

Hooker, S.K., R.W. Baird, and A. Fahlman. 2009. Could beaked whales get the bends? Effect of diving behaviour and physiology on modelled gas exchange for three species: *Ziphius cavirostris*, *Mesoplodon densirostris* and *Hyperoodon ampullatus*. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 167:235-246.

Hooker, S.K., and A. Fahlman. 2015. Pressure regulation. In Marine Mammal Physiology: Requisites for Ocean Living. M. Castellini, and J. Mellish, editors. CRC Press, 69-92.

Hooker, S.K., P. Miller, M.P. Johnson, O.P. Cox, and I.L. Boyd. 2005. Ascent exhalations of Antarctic fur seals: a behavioural adaptation for breath-hold diving? *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 272:355-363.

Hoopes, L.A., A.M. Landry Jr, and E.K. Stabenau. 2000. Physiological effects of capturing Kemp's ridley sea turtles, Lepidochelys kempii, in entanglement nets. *Canadian Journal of Zoology* 78:1941-1947.

Houghton, J.D.R., T.K. Doyle, J. Davenport, R.P. Wilson, and G.C. Hays. 2008. The role of infrequent and extraordinary deep dives in leatherback turtles (Dermochelys coriacea). *Journal of Experimental Biology* 211:2566-2575.

James, M.C., J. Davenport, and G.C. Hays. 2006. Expanded thermal niche for a diving vertebrate: a leatherback turtle diving into near-freezing water. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 335:221-226.

Jepson, P.D., M. Arbelo, R. Deaville, I.A.P. Patterson, P. Castro, J.R. Baker, E. Degollada, H.M. Ross, P. Herraez, A.M. Pocknell, F. Rodriguez, F.E. Howie, A. Espinosa, R.J. Reid, J.R. Jaber, V. Martin, A.A. Cunningham, and A. Fernandez. 2003. Gas-bubble lesions in stranded cetaceans - Was sonar responsible for a spate of whale deaths after an Atlantic military exercise? *Nature* 425:575-576.

Jepson, P.D., R. Deaville, I.A.P. Patterson, A.M. Pocknell, H.M. Ross, J.R. Baker, F.E. Howie, R.J. Reid, A. Colloff, and A.A. Cunningham. 2005. Acute and chronic gas bubble lesions in cetaceans stranded in the United Kingdom. *Veterinary Pathology* 42:291-305.

Kear, B.P., and M.S. Lee. 2006. A primitive protostegid from Australia and early sea turtle evolution. *Biology letters* 2:116-119.

Kooyman, G.L. 1973. Respiratory adaptations in marine mammals. *American Zoologist* 13:457-468.

Kooyman, G.L. 1989. Diverse Divers: Physiology and Behavior. Springer-Verlag, Berlin. 200 pp.

Kooyman, G.L., J.P. Schroeder, D.M. Denison, D.D. Hammond, J.J. Wright, and W.P. Bergman. 1972. Blood nitrogen tensions of seals during simulated deep dives. *American Journal of Physiology* 223:1016-1020.

Kooyman, G.L., and E.E. Sinnett. 1982. Pulmonary shunts in Harbor seals and sea lions during simulated dives to depth. *Physiological Zoology* 55:105-111.

Levett, D., and I. Millar. 2008. Bubble trouble: a review of diving physiology and disease. *Postgraduate medical journal* 84:571-578.

Lewison, R., B. Wallace, J. Alfaro-Shigueto, J. Mangel, S. Maxwell, and E. Hazen. 2013. Fisheries bycatch of marine turtles: lessons learned from decades of research and conservation. *The biology of sea turtles* 3:329-351.

Lewison, R.L., and L.B. Crowder. 2007. Putting longline bycatch of sea turtles into perspective. *Conservation biology* 21:79-86.

Lewison, R.L., L.B. Crowder, A.J. Read, and S.A. Freeman. 2004. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. *Trends in Ecology & Evolution* 19:598-604.

Lillo, R.S., J.F. Himm, P.K. Weathersby, D.J. Temple, K.A. Gault, and D.M. Dromsky. 2002. Using animal data to improve prediction of human decompression risk following air-saturation dives. *Journal of Applied Physiology* 93:216-226.

Lunetta, P., and J.H. Modell. 2005. Macroscopical, microscopical, and laboratory findings in drowning victims. In Forensic pathology reviews. Springer, 3-77.

Lutcavage, M.E., P.G. BUsHNELL, and D.R. JoNEs. 1992. Oxygen stores and aerobic metabolism in the leatherback sea turtle. *Canadian Journal of Zoology* 70:348-351.

Lutcavage, M.E., and P.E. Lutz. 1997. Diving physiology. In The biology of sea turtles. P.L. Lutz, and J.A. Musick, editors. CRC Press, New York.

Lutcavage, M.E., and P.L. Lutz. 1991. Voluntary diving metabolism and ventilation in the loggerhead sea turtle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 147:287-296.

Lutcavage, M.E., P.L. Lutz, and H. Baier. 1989. Respiratory mechanics of the loggerhead sea turtle, Caretta-caretta. *Respiration Physiology* 76:13-24.

Lutz, P., J. LaManna, M. Adams, and M. Rosenthal. 1980. Cerebral resistance to anoxia in the marine turtle. *Respiration physiology* 41:241-251.

Lutz, P.L., and B.B. Bentley. 1985a. Physiology of Diving in the Sea Turtle. *Copeia* 671-679.

Lutz, P.L., and T.B. Bentley. 1985b. Respiratory physiology of diving in the sea turtle. *Copeia* 671-679.

Mahon, R.T., and D.P. Regis. 2014. Decompression and decompression sickness. *Compr Physiol* 4:1157-1175.

Mangel, J.C., J. Alfaro-Shigueto, M.J. Witt, P.H. Dutton, J.A. Seminoff, and B.J. Godley. 2011. Post-capture movements of loggerhead turtles in the southeastern Pacific Ocean assessed by satellite tracking. *Marine Ecology Progress Series* 433:261-U307.

Mathiesen, Á.M. 2015. The state of world fisheries and aquaculture 2012. In Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Maxwell, S.M., M.J. Witt, G. Abitsi, M.P. Aboro, P.D. Agamboue, G.M. Asseko, F. Boussamba, E. Chartrain, M.S. Gnandji, and B.D.K. Mabert. 2018. Sea turtles and survivability in demersal trawl fisheries: Do comatose olive ridley sea turtles survive post-release? *Animal biotelemetry* 6:1-8.

McDonald, B.I., and P.J. Ponganis. 2012. Lung collapse in the diving sea lion: hold the nitrogen and save the oxygen. *Biology Letters* 8:1047-1049.

Meylan, A. 1988. Spongivory in hawksbill turtles: a diet of glass. *Science* 239:393-395.

Milsom, W.K., B.L. Langille, and D.R. Jones. 1977. Vagal control of pulmonary vascular resistance in the turtle Chrysemys scripta. *Can J Zool* 55:359-367.

Modell, J.H., H.W. Calderwood, B.C. Ruiz, J.B. Downs, and R. Chapman. 1974. Effects of ventilatory patterns on arterial oxygenation after near-drowning in sea water. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 40:376-384.

Modell, J.H., F. Moya, E.J. Newby, B.C. Ruiz, and A.V. Showers. 1967. The effects of fluid volume in seawater drowning. *Annals of internal medicine* 67:68-80.

Moore, M.J., A.L. Bogomolni, S.E. Dennison, G. Early, M.M. Garner, B.A. Hayward, B.J. Lentell, and D.S. Rotstein. 2009. Gas Bubbles in Seals, Dolphins, and Porpoises Entangled and Drowned at Depth in Gillnets. *Veterinary Pathology* 46:536-547.

Moore, M.J., and G.A. Early. 2004. Cumulative sperm whale bone damage and the bends. *Science* 306:2215-2215.

Paladino, F.V., M.P. O'Connor, and J.R. Spotila. 1990. Metabolism of leatherback turtles, gigantothermy, and thermoregulation of dinosaurs. *Nature* 344:858-860.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Garcia-Parraga, B. Stacy, and C. Harms. 2017. Fisheries and sea turtles. In Sea Turtle Health and Rehabilitation C. Manire, TM Norton, BA Stacy, CJ Innis & CA Harms editor J Ross Publishing, Plantation, FL, USA. 859-897.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Monteiro, D. García-Párraga, J. Hernandez, Y. Swimmer, S. Paz, and N. Stacy. 2020. On-board study of gas embolism in marine turtles caught in bottom trawl fisheries in the Atlantic Ocean. *Scientific Reports* 10:1-9.

Perry, S., and H.-R. Duncker. 1978. Lung architecture, volume and static mechanics in five species of lizards. *Respiration physiology* 34:61-81.

Phillips, B.E., S.A. Cannizzo, M.H. Godfrey, B.A. Stacy, and C.A. Harms. 2015. Exertional myopathy in a juvenile green sea turtle (Chelonia mydas) entangled in a large mesh gillnet. *Case Reports in Veterinary Medicine* 2015:

Piantadosi, C.A., and E.D. Thalmann. 2004. Pathology: whales, sonar and decompression sickness. *Nature* 428:1 p following 716; discussion 712 p following 716.

Picazo, J.L.C., V.M. Cabedo, and D.G. Parraga. 2020. El desconocido caso de descompresión de las tortugas marinas. *Mediterráneo económico* 119-142.

Plotkin, P., P. Lutz, J. Musick, and J. Wyneken. 2002. Adult migrations and habitat use. *The biology of sea turtles* 2:225-241.

Poiner, I.R., and A.N.M. Harris. 1996. Incidental capture, direct mortality and delayed mortality of sea turtles in Australia's Northern Prawn Fishery. *Marine Biology* 125:813-825.

Ponganis, P.J., G.L. Kooyman, R. Van Dam, and Y. Le Maho. 1999. Physiological responses of king penguins during simulated diving to 136 m depth. *Journal of Experimental Biology* 202:2819-2822.

Portugues, C., J.L. Crespo-Picazo, D. García-Párraga, J. Altimiras, T. Lorenzo, A. Borque-Espinosa, and A. Fahlman. 2018. Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Conservation physiology* 6:cox074.

Ricciardi, M., D. Franchini, C. Valastro, S. Ciccarelli, F. Caprio, A. Eyad Assad, and A. Di Bello. 2019. Multidetector computed tomographic anatomy of the lungs in the loggerhead sea turtle (Caretta caretta). *The Anatomical Record* 302:1658-1665.

Ridgway, S.H., and R. Howard. 1979. Dolphin lung collapse and intramuscular circulation during free diving: evidence from nitrogen washout. *Science* 206:1182-1183.

Ridgway, S.H., B.L. Scronce, and J.W. Kanwisher. 1969. Respiration and Deep Diving in the Bottlenose Porpoise. *Science* 166:1651-1654.

Rothschild, B., and L.D. Martin. 1987. Avascular necrosis: occurence in diving Cretaceous mosasaurs. *Science* 236:75.

Rothschild, B.M., and V. Naples. 2015. Decompression syndrome and diving behavior in Odontochelys, the first turtle. *Acta Palaeontologica Polonica* 60:163-167.

Sakamoto, W., I. Uchida, Y. Naito, K. Kureha, M. Tujimura, and K. Sato. 1990. Deep diving behavior of the loggerhead turtle near the frontal zone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56:1435.

Sapsford, C. 1978. Anatomical evidence for intracardiac blood shunting in marine turtles. *African Zoology* 13:57-62.

Sasso, C.R., and S.P. Epperly. 2006. Seasonal sea turtle mortality risk from forced submergence in bottom trawls. *Fisheries Research* 81:86-88.

Scholander, P.F. 1940. Experimental investigations on the respiratory function in diving mammals and birds. *Hvalrådets Skrifter* 22:1-131.

Scholander, P.F. 1963. The Master Switch of Life. *Sci Am* 209:92-106.

Shelton, G., and W. Burggren. 1976. Cardiovascular dynamics of the chelonia during apnoea and lung ventilation. *Journal of Experimental Biology* 64:323-343.

Snoddy, J.E., M. Landon, G. Blanvillain, and A. Southwood. 2009. Blood Biochemistry of Sea Turtles Captured in Gillnets in the Lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Journal of Wildlife Management* 73:1394-1401.

Snoddy, J.E., and A. Southwood Williard. 2010. Movements and post-release mortality of juvenile sea turtles released from gillnets in the lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Endangered Species Research* 12:235-247.

Solomon, S.E., and M. Purton. 1984. The respiratory epithelium of the lung in the green turtle (Chelonia mydas L.). *Journal of anatomy* 139:353.

Southwood, A.L. 2013. Physiology as integrated systems. In The biology of sea turtles. J. Wyneken, K.J. Lohmann, and J.A. Musick, editors. CRC, 1-30.

Southwood, A.L., R.D. Andrews, M.E. Lutcavage, F.V. Paladino, N.H. West, R.H. George, and D.R. Jones. 1999. Heart rates and diving behavior of leatherback sea turtles in the Eastern Pacific Ocean. *Journal of Experimental Biology* 202:1115-1125.

Stabenau, E.K., T.A. Heming, and J.F. Mitchell. 1991. Respiratory, acid-base and ionic status of Kemps Ridley sea-turtles (Lepidochelys-Kempi) subjected to trawling. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology* 99:107-111.

Stabenau, E.K., and K. Vietti. 2003. The physiological effects of multiple forced submergences in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Fishery Bulletin* 101:889-899.

Stacy, B.A., J.L. Keene, and B.A. Schroeder. 2016. Report of the technical expert workshop: developing national criteria for assessing post-interaction mortality of sea turtles in trawl, net, and pot/trap fisheries: Shepherdstown, West Virginia, USA, 18-22 August 2015.

Stokes, L., and C. Bergmann. 2019. Careful Release Protocols for Sea Turtle Release with Minimal Injury.

Stokes, L., S.P. Epperly, L.I. Avens, L.C. Belskis, S.R. Benson, J. Braun-McNeill, P.H. Dutton, J. Flanagan, C.A. Harms, and B.M. Higgins. 2008. Sea turtle research techniques manual.

Swimmer, Y., C. Empey Campora, L. McNaughton, M. Musyl, and M. Parga. 2014. Post‐release mortality estimates of loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in pelagic longline fisheries based on satellite data and hooking location. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 24:498-510.

Upite, C.M., K.T. Murray, B.A. Stacy, S.E. Weeks, and C.R. Williams. 2013. Serious injury and mortality determinations for sea turtles in US Northeast and Mid-Atlantic fishing gear, 2006-2010.

van Beeck, E.F., C. Branche, D. Szpilman, J.H. Modell, and J.J. Bierens. 2005. A new definition of drowning: towards documentation and prevention of a global public health problem. *Bulletin of the World Health Organization* 83:853-856.

Vann, R.D., F.K. Butler, S.J. Mitchell, and R.E. Moon. 2011. Decompression illness. *The Lancet* 377:153-164.

Wallace, B.P., A.D. DiMatteo, A.B. Bolten, M.Y. Chaloupka, B.J. Hutchinson, F.A. Abreu-Grobois, J.A. Mortimer, J.A. Seminoff, D. Amorocho, and K.A. Bjorndal. 2011. Global conservation priorities for marine turtles. *PloS one* 6:e24510.

Wallace, B.P., S.S. Heppell, R.L. Lewison, S. Kelez, and L.B. Crowder. 2008. Impacts of fisheries bycatch on loggerhead turtles worldwide inferred from reproductive value analyses. *Journal of Applied Ecology* 45:1076-1085.

Wallace, B.P., C.Y. Kot, A.D. DiMatteo, T. Lee, L.B. Crowder, and R.L. Lewison. 2013. Impacts of fisheries bycatch on marine turtle populations worldwide: toward conservation and research priorities. *Ecosphere* 4:1-49.

Wallace, B.P., R.L. Lewison, S.L. McDonald, R.K. McDonald, C.Y. Kot, S. Kelez, R.K. Bjorkland, E.M. Finkbeiner, S.r. Helmbrecht, and L.B. Crowder. 2010. Global patterns of marine turtle bycatch. *Conservation letters* 3:131-142.

Wang, T., and J.W. Hicks. 1996. Cardiorespiratory synchrony in turtles. *Journal of Experimental Biology* 199:1791-1800.

Wang, T., E.H. Krosniunas, and J.W. Hicks. 1997. The role of cardiac shunts in the regulation of arterial blood gases. *American Zoologist* 37:12-22.

Wang, T., S. Warburton, A. Abe, and T. Taylor. 2001. Vagal control of heart rate and cardiac shunts in reptiles: Relation to metabolic state. *Experimental Physiology* 86:777-784.

West, N.H., P.J. Butler, and R.M. Bevan. 1992. Pulmonary blood-flow at rest and during swimming in the green turtle, Chelonia-mydas. *Physiological Zoology* 65:287-310.

White, F. 1976. Circulation-In: Gans C., Dawson WR (Eds.). Biology of the Reptilia, vol. 5. In Academic Press.

White, F.N., and G. Ross. 1966. Circulatory changes during experimental diving in the turtle. *Am J Physiol* 211:15-18.

Wolke, R.E., and A. George. 1981. Sea turtle necropsy manual.

Work, T.M., and G.H. Balazs. 2002. Necropsy findings in sea turtles taken as bycatch in the North Pacific longline fishery. *Fishery Bulletin* 100:876-880.

Work, T.M., and G.H. Balazs. 2010. Pathology and distribution of sea turtles landed as bycatch in the Hawaii-based North Pacific pelagic longline fishery. *Journal of Wildlife Diseases* 46:422-432.

Wyneken, J. 2001. The anatomy of sea turtles.

Wyneken, J. 2007. 9 The Structure of Cardiopulmonary Systems of Turtles. *Biology of Turtles: From Structures to Strategies of Life*

Wyneken, J., K.J. Lohmann, and J.A. Musick. 2013. The biology of sea turtles. CRC,

Zimmer, W.M., and P.L. Tyack. 2007. Repetitive shallow dives pose decompression risk in deep‐diving beaked whales. *Marine Mammal Science* 23:888-925.



CAPÍTULO 1

Evidencias para el descubrimiento de la enfermedad descompresiva en tortugas marinas

V- CAPÍTULO 1: EVIDENCIAS PARA EL DESCUBRIMIENTO DE LA ENFERMEDAD DESCOMPRESIVA EN TORTUGAS MARINAS

I – INTRODUCCIÓN

El presente capítulo se centra en el descubrimiento de la DCS en tortugas marinas aportando las evidencias sobre la existencia de esta. Este hallazgo inicialmente tiene lugar de forma prácticamente fortuita en un contexto de estudio en profundidad de los casos admitidos con el fin de mejorar la atención clínica asistencial por parte del equipo veterinario del Oceanográfic. Nuestro objetivo siempre ha sido el de maximizar el éxito de recuperación de las tortugas marinas entregadas por los pescadores al CR.

La descripción de la DCS se hizo inicialmente a partir de los primeros 67 ingresos acontecidos entre enero de 2011 y enero de 2014 en nuestro CR. Las evidencias se fueron consolidando a lo largo de 10 años de estudio hasta llegar a un total de 252 casos de embolismo de un total de 435 ingresos hasta finales del 2020, todos ellos capturados accidentalmente por arrastreros y trasmalleros en aguas de la Comunidad Valenciana y atendidos o necropsiados por el equipo de veterinarios del Oceanogràfic. El estudio de los nuevos casos tras la descripción inicial permitió mejorar la capacidad diagnóstica y terapéutica, así como conocer mejor el impacto de la enfermedad sobre los animales, aspectos que se irán abordando en los siguientes capítulos.

II – MATERIALES Y MÉTODOS

A – ADQUISICIÓN DE LOS ANIMALES

Los 67 animales incluidos en este estudio inicial que permitió el descubrimiento y descripción de la enfermedad fueron entregados por pescadores en nuestro CR tras su captura accidental a lo largo de un periodo de 3 años entre el 1 de enero de 2011 y el 2 de enero de 2014. En 2011 particularmente, se inició una campaña activa para promover la participación de los pescadores de la costa valenciana con el fin de que entregasen todos los ejemplares (vivos y muertos) de tortugas capturadas accidentalmente por las redes de enmalle y de arrastre con el fin de que todos los animales pudieran ser evaluados clínicamente antes de su devolución al mar. Hasta 2014 se recibieron un total de 67 tortugas bobas capturadas accidentalmente por arrastre y trasmallo de las diferentes cofradías ubicadas en las 3 provincias de la comunidad autónoma. En el siguiente cuadro resumen se incluyen los animales que formaron parte de este primer estudio:

Pesquería de Origen	Numero ejemplares	Origen	Rango LCC (cm)	Rango Profundidad (m)	Rango de temperatura (ºC)	Estado al ingreso
Trasmallo	18	0 Alicante/ 4 Valencia / 14 Castellón	25-61	10,5-50	13,4-24,5	11 Vivas / 7 Muertas
Arrastre	49	4 Alicante/ 14 Valencia/ 31 Castellón	28-74	25-75	13,6-25	45 Vivas / 4 Muertas

Las 56 tortugas que llegaron vivas al CR se sometieron a un examen clínico completo. En el caso de los cadáveres (11 muertos al ingreso y 6 durante el proceso de recuperación) los animales se sometieron a una necropsia ordenada, sistemática y completa y a una toma de muestras para un posterior estudio histopatológico de los órganos y tejidos.

Adicionalmente en todos los casos se registró la fecha de captura y cuando fue posible los parámetros ambientales reportados por el pescador incluyendo tanto la profundidad de calado del aparejo como los tiempos de arrastre o calado del trasmallo. De forma complementaria como una variable ambiental adicional se registró para cada animal entregado la temperatura diaria de la superficie del mar en el

puerto de origen de los barcos pesqueros de acuerdo con SeaTemperature (www.seatemperature.org; visitada el 1 de diciembre de 2020).

Por último, se registraron en cada entrega las observaciones de los pescadores relacionadas con la situación y el comportamiento de las tortugas a bordo inmediatamente tras la captura y su evolución en el tiempo hasta su entrega.

B– DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Todas las tortugas capturadas vivas fueron examinadas en las primeras 24 h tras haber salido a superficie (media de 12h desde la hora reportada de captura). Esto se debe a que muchos de los ejemplares fueron capturados de madrugada y el barco se mantenía faenando varias horas más con la tortuga a bordo para posteriormente retornar a puerto. En ese momento en cuanto el pescador recobraba cobertura móvil al acercarse a costa, daba el aviso al 112 y este a la Universidad de Valencia que se encargaba de activar el protocolo de recogida. Finalmente, el personal del Oceanográfic o del Servicio de Vida Silvestre de la Consellería de Agricultura y Medio Ambiente se desplazaba a recoger al ejemplar y traerlo de vuelta por carretera al hospital veterinario del acuario donde el animal era atendido de inmediato por el equipo del Oceanográfic.

La evaluación clínica rutinaria llevada a cabo incluía un examen físico y neurológico completo según lo descrito en el trabajo de Chrisman et al. (1997) donde se evaluaba el estado general de consciencia/actividad, postura de la cabeza, respuesta de mordida, reflejo palpebral, reflejo retractor del cuello y aletas, sensibilidad al dolor superficial en aletas y reflejo cloacal. Asimismo, se incluían de imagen mediante radiografía y ecografía y, en algunos casos, estudios de hematología y bioquímica completas. En algunos casos más relevantes, se incluyeron además estudios complementarios pormenorizados mediante tomografía computerizada con el fin de mapear y cuantificar mejor el grado de embolismo.

Las muestras de sangre se tomaron de forma rutinaria del seno cervical dorsal con una jeringa de 5 ml y aguja hipodérmica de 21G y 40 mm (Henry-Schein®) siendo posteriormente transferidas a tubos de 2ml (Aquisel®) de heparina de litio para su análisis/procesado inmediato. El tiempo máximo transcurrido desde la extracción hasta el análisis fue de 1 h.

La analítica incluyó hematología automatizada con un hemocitómetro Abbott Celldyn 3700SL (Abbott®) o Sysmex XN-100 (Sysmex®), hematocrito manual estándar en microcentrifuga,

determinación y estudio citológico incluyendo conteo diferencial manual y un panel de bioquímica incluyendo electrólitos utilizando un autoanalizador Olympus AU400 (Olympus®).

Los estudios de diagnóstico por imagen incluyeron los siguientes equipos:

- La evaluación radiográfica simple se llevó a cabo con un Philips Practix 400 (unidad de Philips® Medical Systems) y un Kodak Direct View Classic (Sistema CR de Carestream Health®) con Casetes de Kodak de 35 × 43 cm (Kodak PQ) y pantalla fosforescente de almacenamiento ordinario y de 100 micrones (Carestream Health). Todos los ejemplares fueron radiografiados con fines diagnósticos en las proyecciones dorso-ventral (DV), craneo-caudal (CC), y latero-lateral (LL). Las distancias focales para el disparo de las placas variaron entre 1 y 1,5 m, utilizando un promedio en los valores de exposición entre 75 y 120 kV y 7,2 a 20 mAs dependiendo del tamaño del animal y la proyección. Las imágenes digitales fueron procesadas posteriormente con el Software de Adquisición de Kodak (Onyx-RAD Visor de Diagnóstico) para mejorar la visualización y la interpretación de las imágenes. Algunos ejemplares muertos fueron también radiografiados de forma previa a la realización de la necropsia con el fin de poder mapear y cuantificar la presencia intravascular de gas.
- Para el examen ecográfico general se utilizó un equipo comercial General Electric Logiq E Vet, incluyendo sonda lineal de alta resolución, sonda convex y sonda microconvex (Modelos 12LRS GE, 3S GE, y 8CRS GE respectivamente).
- 11 individuos seleccionados con signos compatibles con DCS (4 de trasmallo y 7 de arrastre) fueron además examinados por tomografía computerizada (TC) utilizando una unidad Toshiba Aquilion 16 CT (Toshiba Medical System). Los parámetros de adquisición a lo largo de la exploración de todo el cuerpo de la tortuga fueron de 5 mm de espesor de corte y el intervalo de cortes de 5 mm, con 0,5 mm de adquisición retro-recon en virtud de algoritmos pulmonares y mediastinales. Las imágenes fueron post-procesadas con Osirix software versión 3.3.1 (Pixmeo) y algunas también con Philips Brilliance CT – Working Space software (Koninklijke Philips). Con el programa Philips Brilliance CT, en algunos casos se procedió a segmentar el aire y recrear reconstrucciones volumétricas 3D del volumen de aire en vasos y tejidos (volume rendering) permitiendo además su cuantificación de gas intravascular en algunos ejemplares de interés.

A su llegada al CR, en base a la cantidad y distribución de gas intravascular y en tejidos detectado por las técnicas de diagnóstico por imagen en animales vivos o durante la necropsia, los casos de EG se categorizaron en 3 grupos:

1. **Embolia leve:** cuando sólo se detectó una pequeña cantidad de gas en la región del riñón mediante ecografía y la proyección radiográfica LL. En algunos casos, el gas fue mínimamente detectable también en proyección DV, pero generalmente pasó desapercibido.
2. **Embolia moderada:** cuando se detectó un mayor volumen de gas en la región del riñón, siendo éste muy evidente tanto en ecografía como en radiografía LL, pero también en proyección DV. En esta última proyección también se evidenció el EG (mediante la presencia de angiogramas) en otros vasos de menor calibre ubicados en la periferia del celoma o del hígado. Mediante ecografía, también se observaron algunas burbujas de gas libre en el lumen de los grandes vasos, en el parénquima y vasculatura renal y en las cámaras cardiacas (muy especialmente en el atrio derecho).
3. **Embolia severa:** la presencia de gas fue muy evidente en radiografías DV a nivel del riñón, el hígado, los grandes vasos sistémicos, e incluso en las propias cámaras cardiacas. Las imágenes ecográficas renales y cardiacas generalmente se vieron impedidas por la enorme cantidad de gas infiltrado en los tejidos que generó un gran artefacto impidiendo la penetración de los ultrasonidos. Cuando se pudo conseguir una buena ventana ecográfica, se observaron abundantes burbujas de gas en el torrente sanguíneo y acumulaciones de gas presentes en la mayoría de las cámaras cardiacas y grandes vasos. Los campos pulmonares generalmente casi desaparecieron en proyección radiográfica DV por el colapso pulmonar como consecuencia de la expansión del hígado y los grandes vasos por el gas.

C– TRATAMIENTO

Inicialmente, los individuos sin signos clínicos o con un grado de embolismo leve detectado mediante las técnicas de imagen no recibieron ningún tratamiento específico de apoyo a su llegada.

Los individuos letárgicos o apáticos o que exhibían signos neurológicos, como estupor, atonía muscular en ciertas regiones o retardo en la retracción de las extremidades tras el pinzamiento de la piel con un fórceps, recibieron terapia de apoyo, incluyendo oxigenoterapia a través de una máscara facial (Kruuse®), de una unidad de cuidados intensivos (UCI, Vetario Productos Brinsea) o en animales inconscientes a través de un tubo endotraqueal (Rüsch®). Algunos de estos ejemplares también recibieron fluidoterapia de soporte con suero salino fisiológico (solución salina FisioVet®, B. Braun Medical SA; 10-15 ml·kg^{-1} BW (peso corporal por sus siglas en inglés) por vía intravenosa (IV) y/o por vía subcutánea (SC)). Otros medicamentos comúnmente utilizados en función de la gravedad de los síntomas incluyeron: cardiotónicos (atropina 0,1 mg· kg^{-1} BW por vía intramuscular [IM]; Atropina Braun, B. Braun Medical SA), estimulantes respiratorios (clorhidrato de doxapram 5-10 mg· kg^{-1} BW IM, Docatone-V® Fort Dodge Veterinaria SA), analgésicos ((meloxicam 0.2 mg· kg^{-1} BW IM, Metacam® Boehringer Ingelheim Vet-Medica GmbH); tramadol (5-10 mg· kg^{-1} BW IM, Tramadol, Laboratorios Normon, Normon)) o corticoides (dexametasona 0,5-1,2 mg· kg^{-1} BW IM, Fortecortin® 4 mg, Merck SL) .

La recompresión con oxígeno hiperbárico se aplicó por primera vez en enero de 2013 a 2 tortugas claramente letárgicas y con déficit de sensibilidad en la exploración neurológica, afectadas en un grado moderado de embolia en base a las técnicas de imagen. Una de ellas presentaba además una paresia evidente y retracción de las extremidades posteriores debajo del caparazón. Como inicialmente no contábamos con cámara hiperbárica en la clínica, la presurización en estos primeros casos se logró mediante la introducción de los animales en un autoclave convencional (Selecta, Presoclave 30, J.P. Selecta SA) desconectado del suministro eléctrico y modificado para funcionar como una cámara hiperbárica por medio de una conexión a un cilindro de oxígeno medicinal presurizado a través del tubo de desagüe del autoclave. Previamente a su presurización, se estimuló la respiración animal con una inyección de clorhidrato de doxapram a 5 mg· kg^{-1} y la inserción de una aguja en el punto de acupuntura GV26 (Litscher, 2010). Debido a la falta de experiencia previa en la recompresión de reptiles en cámara hiperbárica, se emplearon inicialmente los protocolos de recompresión-descompresión más comúnmente utilizados en medicina humana (Vann et al. 2011). En nuestro caso, empleamos oxígeno puro para todo el procedimiento ya que no teníamos posibilidad de aplicar mezcla

de gases. Inicialmente se presurizaron los animales a 1,8 atm (2,8 ATA) durante 1 h para luego ir disminuyendo la presión a 1 atm (2 ATA) a lo largo de los siguientes 30 min hasta estabilizar la cámara en 1 atm (2 ATA) durante otras 3h.

Finalmente se procedió a una descompresión gradual, lenta y progresiva hasta alcanzar la presión de superficie (0 atm de presión relativa, 1 ATA) a lo largo de otros 30 min. En el caso del autoclave la vigilancia de los animales en el interior de la cámara no era posible al no contar con ventanas.



Figura 13: Adaptación de un autoclave convencional de uso hospitalario para funcionar a modo de cámara hiperbárica en tortugas marinas.

Los 2 animales tratados con terapia de oxígeno hiperbárico (HBOT) fueron evaluados mediante radiología simple y ecografía antes e inmediatamente después del tratamiento. Al segundo animal tratado, también se le pudo realizar un estudio tomográfico. Inicialmente sólo aquellas tortugas con un ancho de caparazón en recto menor de 30 cm eran susceptibles de ser tratados con HBOT debido al limitado tamaño del autoclave, pero este tratamiento experimental fue suficiente al menos para concluir las primeras pruebas de concepto que permitirían confirmar la presencia de DCS en las tortugas.

D– EXAMEN POST MORTEM

Las necropsias fueron realizadas (salvo en contadas excepciones) dentro de las primeras 24 horas tras la recuperación de las tortugas de las artes de pesca o en menos de 12 horas tras la muerte en aquellos casos que causaban baja en el centro de rehabilitación del Oceanográfic. Las necropsias se realizaron de forma sistemática siguiendo un protocolo adaptado para tortugas marinas (Flint et al., 2009), con mucho cuidado para minimizar la generación de artefactos por infiltración de aire atmosférico debido a la tracción sobre los tejidos (especialmente durante la retirada del plastrón) y con la sección de vasos sanguíneos. Se tomaron fotos y registros de la presencia de gas intravascular en las diferentes regiones anatómicas. Se tomaron además de forma rutinaria muestras para histopatología de piel, músculo, grasa prefemoral, hígado, bazo, corazón, grandes vasos cardiacos, cerebro, intestino, glándula de la sal, plastrón, glándula tiroides, ambos riñones, ambos pulmones, ambas gónadas y de cualquier lesión macroscópica observable. Todos los tejidos fueron fijados en formol tamponado al 10%, procesados de forma rutinaria en bloques de parafina para histopatología, y teñidos con hematoxilina y eosina (H&E).

Con el fin de confirmar el origen del gas en los primeros casos, en uno de los animales afectados inicialmente por EG, se procedió también al muestreo y análisis de gases en el IUSA de la ULPGC, de acuerdo con el protocolo descrito y publicado anteriormente para casos sospechosos de descompresión (Bernaldo de Quirós et al. 2011). La composición del gas intravascular o procedente de las cámaras cardiacas, debía ser coherente con la embolia por descompresión, debiendo descartar la putrefacción o infiltración de gas atmosférico como artefacto de la necropsia (De Quirós et al., 2013). El muestreo se realizó tomando muestras del gas intravascular en 13 puntos diferentes del mismo individuo, en este caso aproximadamente 36 h post mortem.

III – RESULTADOS

Los resultados de este primer estudio demostrativo de la presencia de DCS en tortugas fueron publicados en 2014 y quedan resumidos a continuación (García-Párraga et al., 2014).

La mayoría de las capturas accidentales y muy especialmente los ingresos procedentes de arrastreros se produjeron durante los meses de otoño-invierno (de noviembre a marzo) cuando las temperaturas del agua fueron más bajas.

A– DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO INICIAL

De los 67 casos entregados inicialmente por pescadores, el EG fue detectado en 6 de 18 ejemplares procedentes del trasmallo (33,3%) y en 23 de los 49 casos de arrastre de fondo (46,9%). Esto supuso en aquel momento un 43.3% de todos los casos entregados *(Tabla 1:*

Tabla 1: Tabla resumen sobre los distintos casos tratados

Pesquería de Origen	Número Total ejemplares	Numero ejemplares con EG	Evaluación Clínica casos EG	Severidad del EG RX	Tratamiento EG	Resultado casos EG
Trasmallo	18	6	2 Comatosos	1 Leve	Ninguno	Muere
				1 Leve + Aspiración	Médico	Muere
			4 Muertos	3 Moderado	Ninguno	Mueren
				1 Severo	Ninguno	Muere
Arrastre	49	23	8 Asintomáticos	8 Leve	Médico	Sobreviven
			9 Neurológicos	4 Leve	Médico	Sobreviven
				3 Moderado	1 Médico	Muere
					2 HBOT+ Med	Sobreviven
				2 Severo	Médico	Mueren
			2 Comatosos	2 Leve + Aspiración	Médico	Sobreviven
			4 Muertos	2 Moderado	Ninguno	Mueren
				2 Severo	Ninguno	Mueren

De los 29 casos totales de EG, se evaluaron como leves 16 casos, 8 casos como moderados, y 5 casos como severos.

Según nos informaron los pescadores, las tortugas que no se mostraron con un comportamiento normal desde el inicio, exhibieron clínicamente 2 tipos de conducta claramente distinguibles al salir a superficie: 1) tortugas comatosas que fueron recuperándose a medida que se mantuvieron en superficie y 2) ejemplares aparentemente normales o incluso inicialmente hiperactivos que progresaron a estuporosos al permanecer en superficie en lo que el barco regresaba a puerto. Algunos de los animales comatosos presentaron aspiración de agua de mar en el aparato respiratorio, aunque ésta no siempre estuvo presente. En casos de aspiración, al llegar al CR se observó un patrón alveolar típico en "panal de abeja" en la radiografía dorso-ventral y generalmente los animales mostraron espuma en boca o narinas o expulsaron abundante líquido después de intubación endotraqueal durante la reanimación. Estos animales con aspiración de agua se categorizaron en base a su diagnóstico inicialmente como ahogamientos y generalmente respondieron bien al tratamiento de emergencia convencional (Norton 2005) siempre y cuando no existiesen comorbilidades.

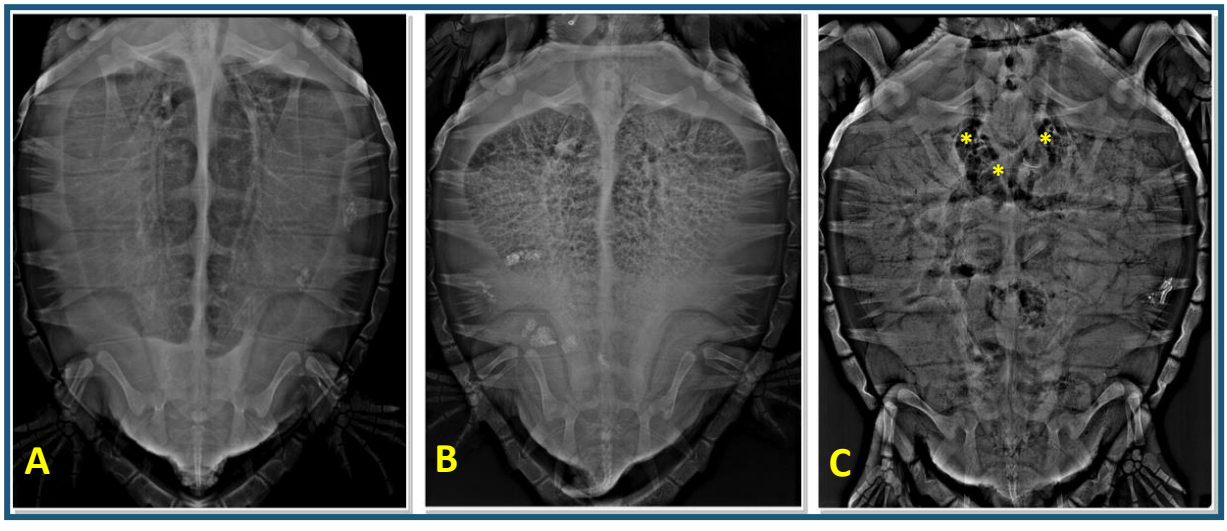


Figura 14: Radiografía simple en proyección DV de ejemplares de tortuga boba a su llegada al CR. A. Animal normal. Nótese la buena definición del campo pulmonar. B. Animal con imagen pulmonar típica en panal de abeja por aspiración de agua. C. Tortuga con imagen típica de EG severo. Nótese la desaparición del contraste del campo pulmonar y la presencia de angiogramas como consecuencia de una masiva presencia de gas intravascular. El corazón también queda completamente delimitado por la abundante presencia de gas (asteriscos). Fuente: adaptado de (García-Párraga et al., 2014).

Durante todo este periodo, 21 ejemplares llegaron vivos al centro de rehabilitación para ser evaluados clínicamente. La inmensa mayoría de los individuos ingresaron con buena condición corporal y depósitos grasos de reserva normales o abundantes. 8 exhibieron un comportamiento normal, 4 llegaron en estado comatoso, y 9 fueron reportados como muy activos/hiper-reactivos tras salir a superficie o desarrollaron síntomas neurológicos progresivos, incluyendo parálisis de las extremidades o pérdida de sensibilidad al dolor (nocicepción). De este último grupo fueron todos capturados por arrastreros y en algunos casos llegaron en fase agónica-terminal. Los ejemplares mostraron una disposición típica retrayendo las aletas posteriores o recogiendo las aletas delanteras bajo el plastrón (**Figura 15**). Algunas de estas tortugas también mostraron un aumento considerablemente el hematocrito en la analítica inicial y en caso de introducirlas en los tanques de recuperación, se mantuvieron en flotación positiva y con una natación errática y descoordinada. Si no se sometían a tratamiento hiperbárico, en algunos casos los signos neurológicos iban progresado gradualmente hasta alcanzar un estado comatoso y muerte, la cual tenía lugar generalmente dentro de las primeras 72h tras la captura. En base a la gravedad del cuadro descompresivo, algunos ejemplares pudieron haber mostrado sintomatología neurológica inicialmente en el barco tras la captura, y llegar ya a nuestro centro en fase comatosa o incluso ya muertos.



Figura 15: Signos clínicos en tortugas bobas a su llegada al CR: (a) ejemplar vivo con EG sistémico moderado. Nótese la espasticidad de las extremidades posteriores retraídas bajo el caparazón antes de terapia de recompresión. Estos signos se resolvieron inmediatamente después del tratamiento con oxígeno hiperbárico.

5 de los 49 individuos (un 10,2%) que llegaron al CR procedentes de la pesca accidental por arrastre se mostraron activos en un principio al sacarlos del aparejo aun confirmándose posteriormente como casos de embolismo moderado a severo en base a las pruebas de imagen. Algunos de estos casos de embolismo moderado o severo inicialmente activos, terminaron muriendo antes de llegar al CR. Inicialmente, la mayoría de estos casos de EG terminaron con la muerte del paciente a lo largo de las primeras 48 a 72 h post-captura a pesar del tratamiento médico convencional de soporte. Únicamente 2 de estos 5 animales sobrevivieron al ser sometidos a un tratamiento específico con oxígeno hiperbárico (HBOT) (**Tabla 1**) que resultó ser el único efectivo en estos casos de mayor gravedad. De hecho, los casos de embolismo más severos fueron generalmente letales en las primeras 6 a 8 horas, reduciendo así las posibilidades de tratamiento hiperbárico al ingresar en su mayoría ya muertos. Tras la aplicación del HBOT a los afectados, los signos neurológicos se resolvieron y las tortugas recuperaron la actividad normal. Las radiografías y el TC posterior al tratamiento revelaron la desaparición de la mayoría del gas intravascular y la reexpansión pulmonar (**Figura 16**). Tras un periodo de observación de 60 días y la normalización de todos sus parámetros clínicos y comportamentales, los animales tratados se consideraron clínicamente sanos y fueron devueltos al mar.

Radiográficamente, el gas intravascular se observa como radiolúcido marcando el contorno e incluso generando la distensión de las cámaras cardiacas y de los grandes vasos (**Figura 14 C**). En los individuos gravemente afectados de EG, los pulmones se encontraron parcialmente colapsados en base a la reducción de la extensión del campo pulmonar normal y el incremento en su radiopacidad. En los casos leves de embolismo donde la cantidad de gas intravascular era escasa, las proyecciones radiográficas LL resultaron ser las más diagnosticas, proporcionando una mayor sensibilidad que las DV para visualización de gas dentro de los vasos renales.

Las burbujas de gas intravasculares fueron detectadas por ecografía como manchas hiperecoicas, generalmente asociadas a la generación de artefactos en cola de cometa en aquellas regiones donde los acúmulos de gas eran mayores. En todos los individuos afectados en base a radiografía, la ecografía renal reveló la presencia de gas en el interior del parénquima y vasos renales (**Figura 18**). La ecocardiografía mostró una mayor presencia de burbujas en el atrio derecho que en el izquierdo, tal y como también se evidenció en las necropsias y de forma similar al patrón observado en los submarinistas ya que el pulmón se entiende que actúa como filtro de burbujas (Francis and Simon, 2003).

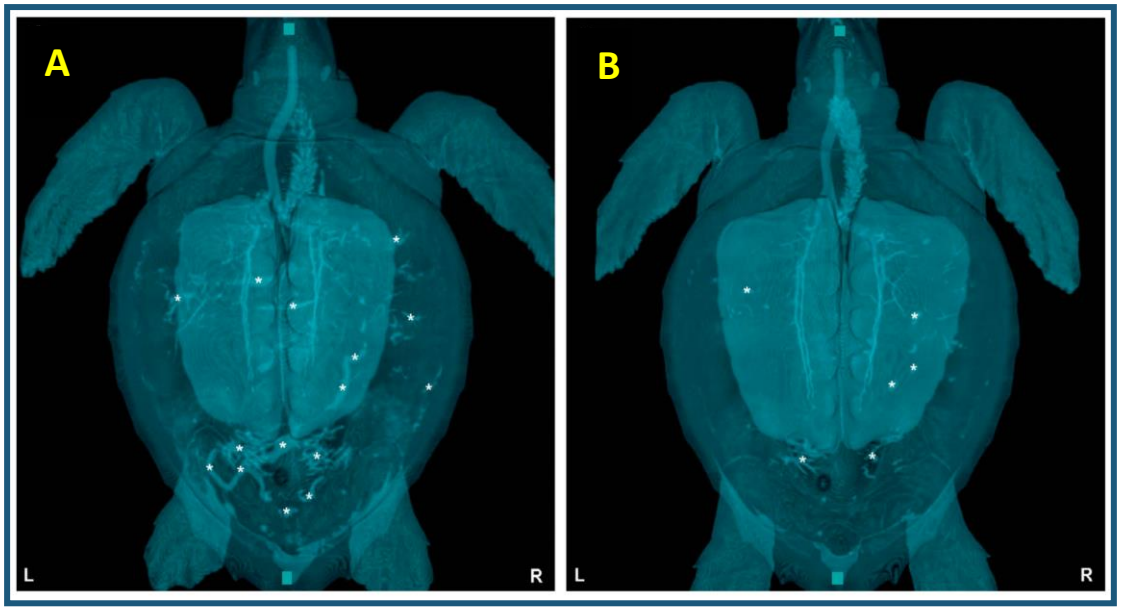


Figura 17: Vista dorsal de la representación 3D de los espacios llenos de aire/gas de una tortuga con EG sistémico moderado antes (A) y después (B) de HBOT. Las imágenes se obtuvieron con un intervalo de 6 horas. Todo el gas se muestra en un color más evidente, y el gas intravascular está marcado con asteriscos. En (A) se puede observar la demarcación de las venas hepáticas y los vasos renales por la presencia de gas intraluminal antes del tratamiento. La expansión pulmonar está reducida. En (B), la mayoría de gas contenido en los grandes vasos casi ha desaparecido tras el tratamiento hiperbárico, indicando la reabsorción/eliminación del gas, mientras que la expansión pulmonar ha vuelto a la normalidad. Algunos vasos menores todavía contienen gas en la periferia de las áreas de proyección hepática y renal que no ha terminado de desaparecer con el tratamiento. Fuente: (García-Párraga et al., 2014)

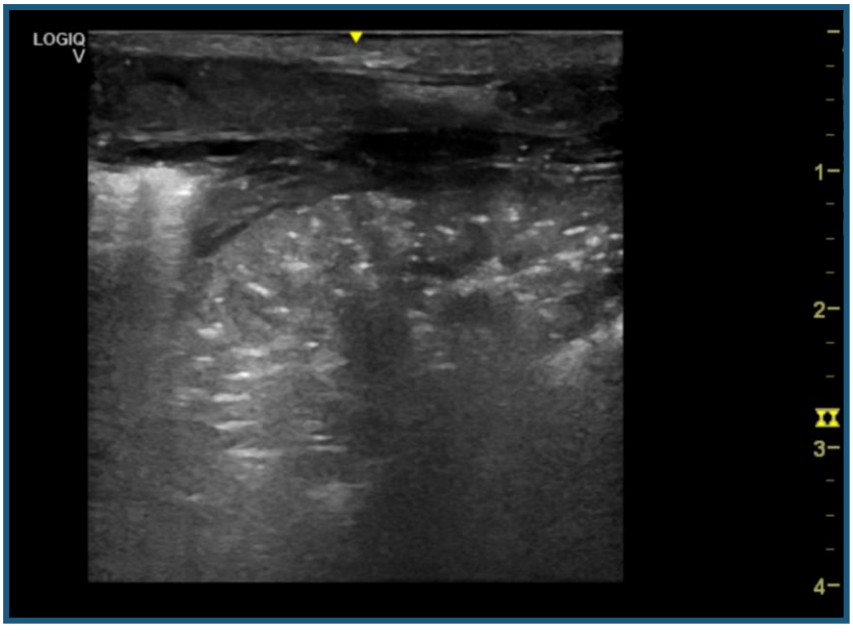


Figura 18: Ecografía renal de un animal afectado de EG moderado mostrando la presencia de pequeñas manchas hiperecogénicas (blancas) compatibles con la existencia de burbujas de gas dispersas en el parénquima renal y en vasos renales y perirrenales.

Para este primer trabajo se utilizaron técnicas de TC en 11 casos con el fin de discriminar mejor la presencia y distribución del embolismo (**Figura 19** y **Figura 44**). La embolia fue evidenciada en los riñones, hígado, corazón, bazo y sistema nervioso central (**Figura 19**). En las imágenes de TC simple (sin contraste), el gas fue detectado en diferentes vasos como áreas hipoatenuadas (negras) en comparación con los tejidos circundantes. Como en las radiografías, los pulmones de los casos graves estaban hiperatenuados (más blancos) y su expansión estaba reducida debido al colapso parcial. En particular, la reconstrucción sagital multiplanar de las imágenes tomográficas reveló claramente una señal compatible con la presencia de gas dentro del canal vertebral y el sistema nervioso central que no fue detectado por ecografía o mediante radiografía. La presencia de gas dentro o alrededor del sistema nervioso en el canal vertebral fue evidente incluso en algunos casos leves. Estos hallazgos fueron en muchos casos compatibles con la supervivencia de las tortugas incluso sin recibir tratamiento específico alguno. Sin embargo, el que los animales no muriesen no descarta el posible daño renal y/o daño neurológico o el deterioro funcional asociado al embolismo de los diferentes vasos en diferentes órganos y tejidos del animal.

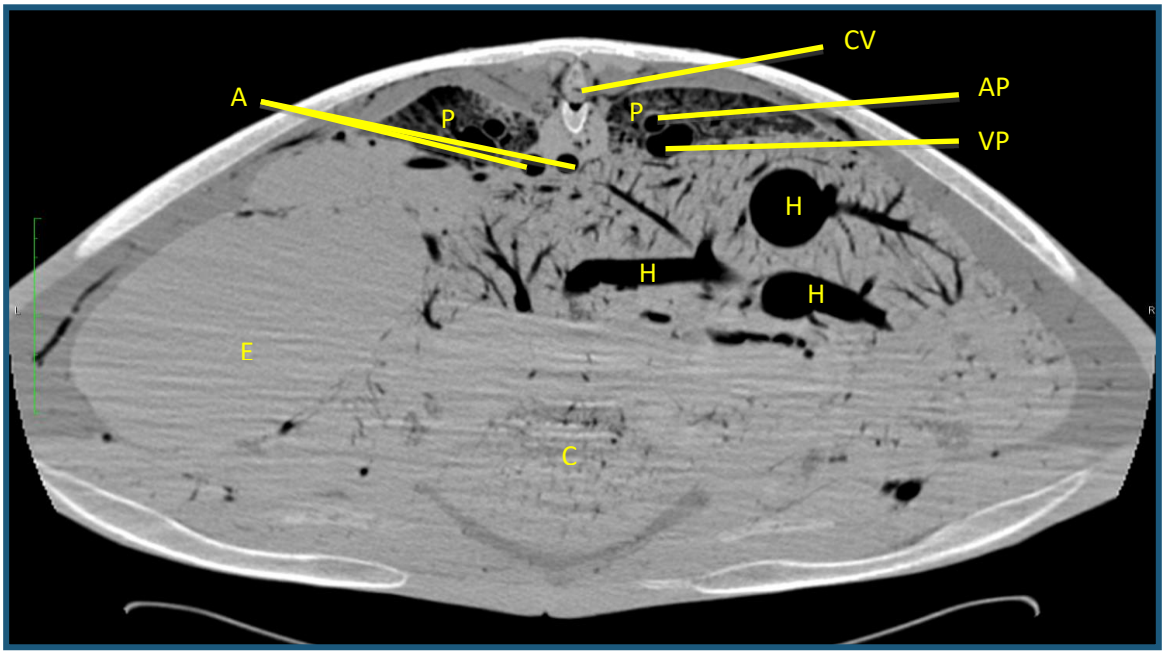


Figura 19: Evidencia de EG en Caretta caretta mediante tomografía computarizada. Imagen transversal del celoma a la altura del corazón (C) en un caso con EG sistémico severo, mostrando zonas evidentes de gas intraluminal (negro) en el interior de los principales vasos sanguíneos. El gas está presente en el sistema venoso hepático (H), las aortas derecha e izquierda (A), arterias pulmonares (AP), venas pulmonares (VP) y en el canal vertebral (CV). Los pulmones (P) están híper atenuados (blancos) debido al colapso parcial. El estómago (E) en este caso está distendido por la posible ingestión de agua de mar.

B – DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO

En el presente trabajo se realizaron necropsias completas a un total de 16 animales muertos tras la captura accidental (8 muertos en el aparejo, 3 muertos durante el transporte, y 5 muertos en el centro de rehabilitación). El EG fue detectado en 13 de estas tortugas (81%): en 8 de las 11 que llegaron muertas y en 5 (100% de los casos) de los que murieron tras su hospitalización.

En caso de sospecha de DCS, es fundamental prestar máxima atención para detectar cualquier acumulación patológica de gas, así como para evitar la creación de artefactos de gas durante la necropsia por infiltración a través del tejido y la tracción tras el seccionamiento de los vasos sanguíneos. En los casos severos de EG, el gas fue inicialmente visible ya en el interior de la vena media abdominal (nada más retirar el plastrón) y posteriormente fue evidenciable en los atrios (especialmente el atrio derecho en casos moderados y en ambos atrios en casos graves) así como en el seno venoso (**Figura 18**). Las burbujas de gas llegaron a ser perceptibles también en algunos casos a nivel de la vasculatura coronaria. Posteriormente según se avanzaba con la necropsia, el gas se pudo evidenciar a nivel de los vasos mesentéricos, vasculatura del estómago, páncreas e hígado, así como en la postcava y otros grandes vasos (**Figura 22**). A nivel intestinal en algunos casos se observó una congestión segmentaria de la mucosa intestinal en bandas de 1-3cm de ancho, a lo largo de diferentes secciones intermedias del intestino delgado principalmente (**Figura 22**). El gas también pudo evidenciarse en las venas renales, pero con algo más de dificultad debido a la disposición retrocelómica del riñón. En los casos más severos, el bazo llegó a estar completamente enfisematoso y dilatado por el gas. En la mayoría de los casos letales, los riñones presentaron extensas zonas hemorrágicas y/o congestivas de forma multifocal (**Figura 23**). Los pulmones de algunos animales se encontraron parcialmente colapsados con enfisema pulmonar en su región más craneal. En algunos individuos se detectó la presencia de cierta cantidad de líquido y espuma dentro de las vías respiratorias y parénquima pulmonar compatible con aspiración de agua. Otros hallazgos incluyeron la presencia de trasudado celómico en individuos con EG grave y la presencia de una considerable cantidad de alimento y contenido digerido en el estómago e intestino, en la mayoría de las tortugas. En los casos moderados, el EG no fue tan obvio en la necropsia como lo era mediante las técnicas de diagnóstico por imagen, por lo que la necropsia requeriría un cuidadoso examen para su detección.

Generalmente, el gas fue más fácilmente detectable dentro de los vasos renales y mesentéricos, así como en la postcava y en el seno venoso. En 1 caso leve de embolismo concurrente con ahogamiento como presunta causa principal de la muerte, no se encontraron burbujas ni lesiones macroscópicas asociadas a la presencia de gas intravascular en ninguno de los órganos o tejidos explorados.

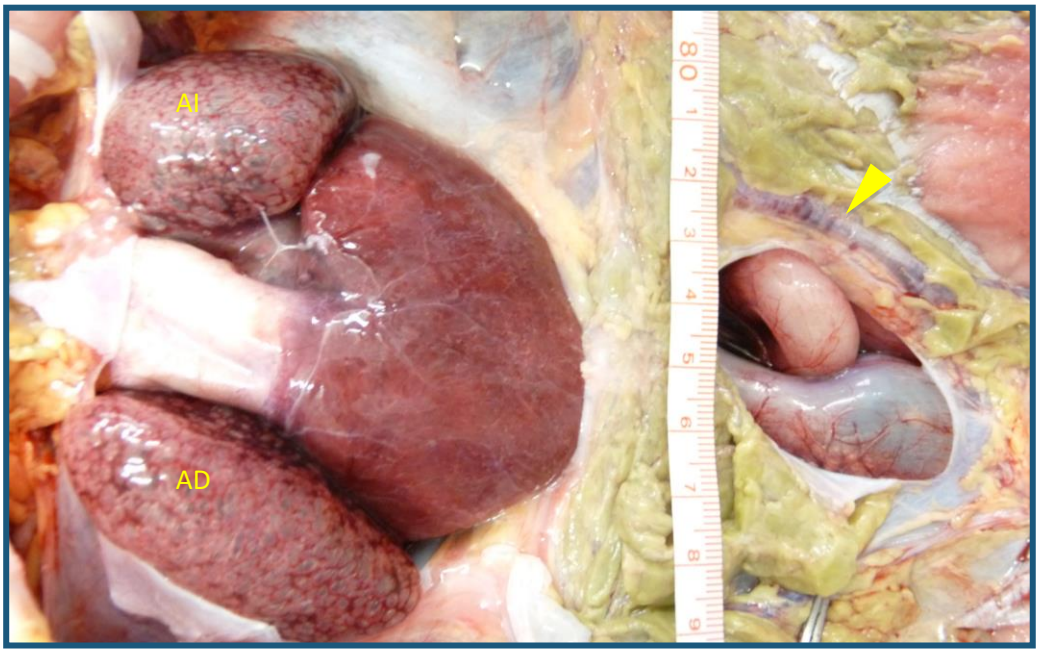


Figura 20: La presencia de gas en la vena abdominal media (flecha) fue detectable en los casos más severos inmediatamente tras la retirada del plastrón. En este caso también se puede observar tras la retirada del pericardio, la distensión importante de ambos atrios como consecuencia de la acumulación de gas en su interior. Atrio Derecho (AD). Atrio Izquierdo (AI).

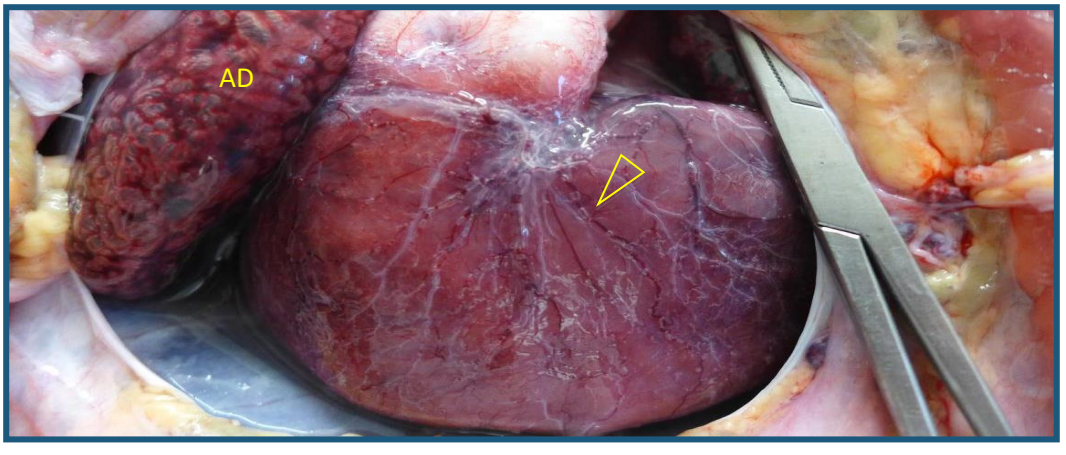


Figura 21: Presencia de burbujas de gas en la vasculatura coronaria (flecha). Atrio Derecho (AD).

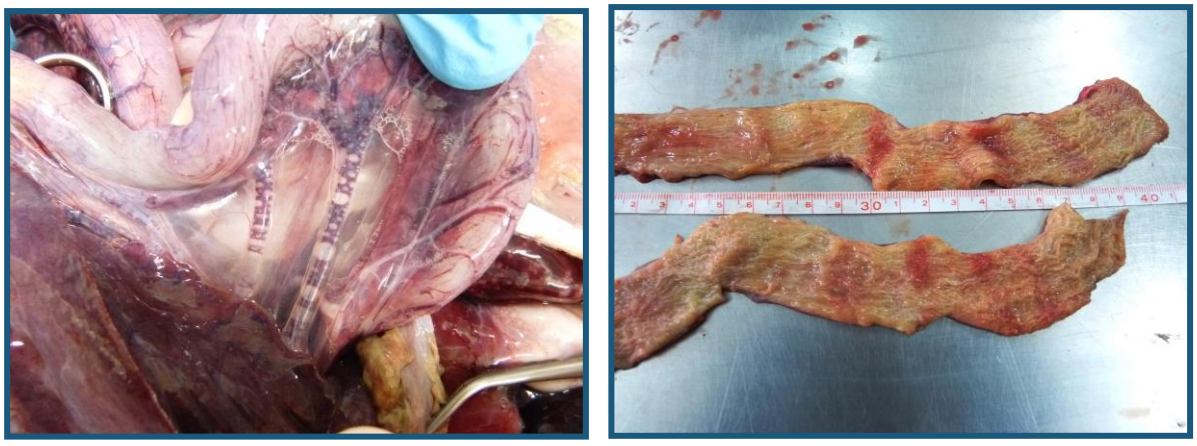


Figura 22: Presencia de burbujas de gas en la vasculatura mesentérica. Congestión segmentaria de la mucosa intestinal.



Figura 23: Lesiones de congestión/hemorragia a nivel del parénquima renal.

Los hallazgos histopatológicos preliminares de los casos estudiados incluyeron una congestión multisistémica de moderada a severa con la presencia de burbujas de gas intravascular en múltiples órganos incluyendo el pulmón, el hígado, el riñón y el corazón (**Figura 24**). Asimismo, se evidenciaron hemorragias y edema perivascular, variando en función de su magnitud y gravedad, según los animales estudiados y los diferentes tejidos. Adicionalmente también se describió de forma frecuente una necrosis miocárdica aguda multifocal con degeneración vacuolar de miocitos, edema alveolar, degeneración hepatocelular microvacuolar difusa, edema sinusoidal y presencia de glóbulos hialinos dentro de los hepatocitos.

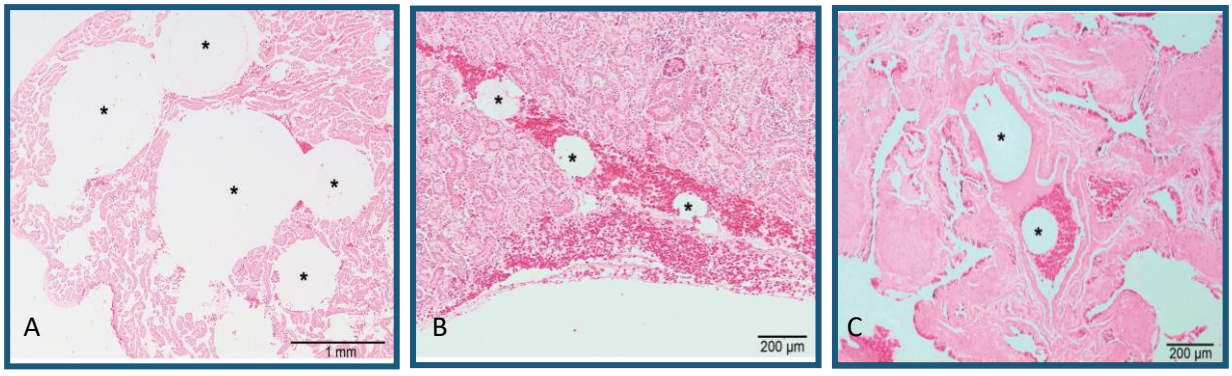


Figura 24: (A) Atrio derecho de un caso con EG severo. El lumen auricular muestra émbolos de gas coalescentes de forma multifocal (asteriscos), de tamaño variable, redondos u ovalados, negativos a la tinción grasa y comprimiendo el miocardio adyacente. Tinción H&E. (B) El riñón de un caso con EG moderado. Venas interreniculares multifocalmente ocupadas por émbolos de gas no grasos redondos u ovalados, de tamaño variable. Tinción H&E. (C) Pulmón de un caso con EG sistémico severo. Las venas pulmonares muestran émbolos de gas intravasculares de tamaño variable, redondos u ovalados, no grasos. Tinción H&E. Fuente: (García-Párraga et al., 2014)

El análisis de la composición del gas intravascular solo se realizó en 1 caso severo como medida probatoria de que el gas procedía del fenómeno descompresivo, confirmado que el principal componente era el nitrógeno (media ± SD = 75,3± 0,9% µmol), seguido por el dióxido de carbono (18.6 ±2,0% µmol) y oxígeno (6.0 ± 1.3% µmol).

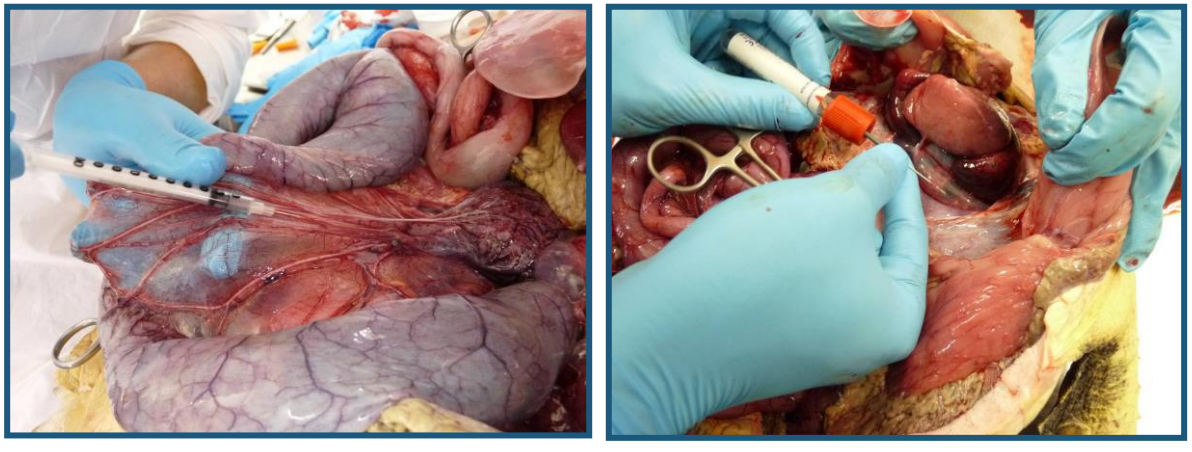


Figura 25: Para confirmar el nitrógeno como principal componente y la causa de la EG y poder descartar la putrefacción o los artefactos generados por infiltración de gas atmosférico durante la necropsia o el manejo del cadáver, se puede proceder a la recolección gas intravascular siguiendo los mismos protocolos definidos para otras especies (Bernaldo de Quirós et al. 2011). Fuente:(Parga et al., 2017)

IV – DISCUSIÓN

Las tortugas marinas habían sido consideradas tradicionalmente como de bajo riesgo de sufrir el síndrome descompresivo asociado al embolismo gaseoso (Berkson, 1967; Lutcavage and Lutz, 1997); sin embargo, en este primer trabajo se demostró por primera vez que al menos las tortugas bobas (*Caretta caretta*) capturadas en redes de enmalle y de arrastre se podrían llegar a ver afectadas con relativa frecuencia por EG (García-Párraga et al., 2014). Aunque la detección de EG no implica un diagnóstico de DCS, grandes cargas de burbujas en sangre y tejidos sí que se correlacionan con la probabilidad de DCS (Gardette, 1979; Neuman et al., 1976; Sawatzky, 1993). Los casos que se trataron en el presente estudio revelaban cantidades de gas muy significativas en el lecho vascular y los tejidos de los animales afectados, llevando a síntomas y lesiones muy severas compatibles con DCS, después de ser ascendidas a la superficie (García-Párraga et al. 2014). Las conclusiones de cara al diagnóstico se basaron en los signos clínicos, las técnicas de diagnóstico por imagen, los hallazgos patológicos asociados, y la resolución del cuadro clínico y las evidencias de embolia tras el tratamiento recompresivo-descompresivo gradual con oxígeno hiperbárico. Hasta la fecha, este fue el primer hallazgo y desde entonces sólo se han reportado casos de DCS por nuestro grupo de trabajo en tortugas marinas capturadas accidentalmente en el Mediterráneo (costa valenciana) y en el Adriático italiano o en aguas del Atlántico Sur (Brasil) como veremos en los siguientes capítulos. Era por tanto muy necesario continuar con la investigación en busca de evidencias de la enfermedad en pesquerías por todo el mundo, en nuevas especies, así como poder comprender mejor los distintos factores que podrían afectar la aparición de la enfermedad en las tortugas, incluyendo la tipología de pesca (profundidad y tiempos de calado), área geográfica, las condiciones oceanográficas, susceptibilidad específica, y las características individuales de los animales que pudieran influir.

A–DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES Y FACTORES DE CONFUSIÓN

Desde un inicio cuando se detectaron los primeros casos de EG asociados a descompresión, se trataron de descartar otras causas que pudiesen generar la aparición de burbujas de gas intravasculares como el embolismo de origen traumático y el posible origen en la generación de artefactos como consecuencia de la putrefacción. Sin embargo, estas causas se descartaron desde un principio en base a clara demostración de la ocurrencia del embolismo *antemortem* (en tortugas vivas) y la ausencia de cualquier lesión traumática aparente asociada a los procedimientos de pesca o manejo. El barotrauma pulmonar también podría llegar a causar un embolismo arterial por aire atmosférico (Vann et al., 2011); sin embargo, los requisitos físicos para el barotrauma no se cumplen en el caso de las tortugas capturadas accidentalmente. Las tortugas son buceadores en apnea, lo que significa que la presión interna en los edículos o faveolos al comienzo y al final de la inmersión sería la misma o incluso inferior al final de la inmersión debido al consumo de oxígeno. Así, la expansión excesiva de los pulmones que se da en los buceadores que respiran aire comprimido, es muy improbable en el caso de los animales buceadores en apnea. Además, en el caso que nos afecta, el gas se encontró fundamentalmente en el compartimento venoso de la circulación (como en la DCS en humanos) en lugar de en el sistema arterial. En las necropsias realizadas, las tortugas estaban en buen estado de conservación, y el EG sistémico era consistente con los hallazgos patológicos descritos anteriormente en DCS en humanos y en los casos de varamientos de zifios (Fernandez et al., 2005; Francis and Simon, 2003; Jepson et al., 2003). Además, el hidrógeno, un marcador de la putrefacción (Bernaldo de Quirós et al., 2013a), no se detectó en las muestras de gas recogidas durante la necropsia. Adicionalmente, el EG observable y su sintomatología asociada se consiguieron revertir mediante tratamiento hiperbárico, lo que por definición apuntaría a un diagnóstico de DCS (Vann et al., 2011). De hecho, es la desaparición del EG y la mejoría en respuesta clínica lo que haría cumplir los criterios exigibles en medicina humana para el diagnóstico de DCS (Paulev, 1965; Vann et al., 2011). La DCS es un diagnóstico clínico (Barratt et al., 2002), y el diagnóstico clínico se establece en base a la parsimonia como la explicación más sencilla que puede justificar un suceso. Por lo tanto, habida cuenta de nuestras conclusiones, la DCS sería la explicación más plausible a la hora de justificar los signos clínicos observados y resto de hallazgos que se presentaron.

B– ELEMENTOS CLAVE PARA EL DESCUBRIMIENTO DE LA ENFERMEDAD

De algún modo sorprende que, hasta nuestra descripción en 2014, ningún trabajo con tortugas vivas o con cadáveres procedentes de pesca accidental hubiese detectado la presencia de EG en estos animales. De hecho, la mayor parte de la literatura científica y las investigaciones realizadas hasta la fecha consideraban esta posibilidad como altamente improbable en base a las diferentes adaptaciones anatómicas y fisiológicas que presentan las tortugas marinas al buceo. Este primer trabajo de hecho contó con numerosas trabas y objeciones para su publicación precisamente argumentando que no parecía demasiado creíble que un fenómeno así, tan evidente en base a la información presentada, hubiese podido pasar desapercibido hasta el momento a pesar de todo el trabajo realizado por numerosos grupos internacionales con tortugas capturadas accidentalmente.

Los mecanismos fisiológicos y adaptaciones asociadas al buceo en tortugas marinas han sido objeto de un gran interés durante muchos años: desde los primeros estudios sobre la respuesta a la inmersión forzada en condiciones de laboratorio realizados por Berkson tratando inducir la descompresión (Berkson, 1966), hasta los estudios fisiológicos más recientes basados en sofisticadas tecnologías de monitorización remota con tortugas marinas en libertad (Gredzens and Shaver, 2020; Hochscheid et al., 2007; Omeyer et al., 2019; Southwood, 2013; Thomson and Heithaus, 2014). Berkson (Berkson, 1966) presurizó tortugas verdes a distintas profundidades en una cámara hiperbárica, tratando de evaluar su tolerancia a las condiciones ambientales del buceo durante periodos de más de 100 minutos de inmersión forzada, entre 18 y 25°C, y hasta 22 atm de presión. Dos animales comprimidos a 18,7 atm murieron varias horas después de la descompresión rápida subsiguiente mostrando numerosos émbolos de gas en los capilares de la fascia cervical y en el atrio derecho. La muerte de hecho fue atribuida al embolismo gaseoso sistémico que alcanzaría el cerebro después de la emergencia. El estudio concluyó que el equilibrio de presiones en base a la solubilización progresiva de nitrógeno nunca se llegaría a alcanzar incluso durante una prolongada inmersión a profundidad (se realizaron pruebas a diferentes profundidades), y que por tanto los animales debían disponer de algún tipo de mecanismo de protección subyacente frente a la DCS. Sin embargo, se comprobó que, en circunstancias muy extremas, al menos en el caso de la tortuga verde, el nitrógeno podría llegar a difundir en sangre en la suficiente cantidad como para generar un embolismo a nivel cerebral y causar la muerte del animal tras el ascenso a superficie. Sin embargo, nuestras observaciones con individuos

silvestres en condiciones de pesca accidental son bastante diferentes. Se han observado lesiones dramáticas asociadas a la descompresión tras una inmersión forzada, no sólo limitándose a la detección de unas pocas burbujas intravasculares sino llegando a acumular varios centímetros cúbicos de gas (a veces cientos de mililitros en base a la cuantificación por post-procesado de imagen de TC) en animales atrapados en redes a profundidades muy inferiores a las empleadas por Berkson en sus estudios de laboratorio. Se sigue tratando de buscar argumentos científicos para dar explicación a esta disparidad ya que existen múltiples factores que podrían influir, incluyendo la especie de tortuga (en este caso se trabaja fundamentalmente con tortugas bobas), el tiempo total de inmersión, la temperatura del agua en el momento del atrapamiento y diferencia con la temperatura en superficie, la capacidades de movimiento estando sumergidas (Berkson de hecho fija los animales a una plancha restringiendo el movimiento en el interior de la cámara), la velocidad de ascenso o el perfil de buceo previo antes de sufrir el atrapamiento entre otros. A nuestro entender, los mecanismos de respuesta fisiológica y comportamental en las tortugas marinas salvajes cuando sufren una inmersión forzada como consecuencia de su atrapamiento en aparejos de pesca pueden diferir drásticamente de las observaciones realizadas en condiciones controladas de laboratorio (Berkson, 1966; Harms et al., 2003; Lutz and Bentley, 1985a; Lutz and Dunbar-Cooper, 1987; Southwood, 2013). De hecho, varios estudios han revelado que el enmallamiento en los aparejos de pesca tiene efectos significativos en la fisiología de las tortugas marinas (Harms et al., 2003; Lutz and Dunbar-Cooper, 1987; Snoddy et al., 2009; Snoddy and Southwood Williard, 2010; Southwood, 2013) pero nunca antes se había descrito la DCS. Estudios recientes apuntan a una correlación directa entre la actividad física en los animales y el gasto cardiaco que podría conllevar al exceso de nitrógeno solubilizado en profundidad (Williams et al., 2019).

Diversos factores pueden haber contribuido al descubrimiento de esta enfermedad por nuestro grupo, incluyendo: 1) las oportunidades que ofrece una estrecha colaboración con los pescadores en nuestra región, lo que permite un acceso rápido a los animales vivos y a los cadáveres frescos, 2) la capacidad de una evaluación médica exhaustiva tras la captura, 3) la disponibilidad de una amplia tecnología de diagnóstico por imagen aplicable a los diferentes casos, y 4) la familiaridad y el conocimiento de las bases de la fisiología del buceo en animales y las patologías relacionadas con el EG.

C–MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS

Desde este primer descubrimiento, se trabajó en base a la hipótesis de que las tortugas sumergidas forzosamente durante su atrapamiento en aparejos de pesca podrían no solo ahogarse sino también llegar a desarrollar EG y DCS como consecuencia de una mayor actividad en un intento de liberarse del aparejo y de una inducción simpática. Ésta, llevaría a su vez a una liberación de catecolaminas y a un incremento del gasto cardiaco y de la perfusión pulmonar, lo que incrementaría la difusión de nitrógeno en los pulmones y hacia el resto de los diferentes tejidos, proceso que se vería facilitado en medio hiperbárico. Estudios posteriores también realizados por nuestro grupo sobre la respuesta vascular *in vitro* de las arterias pulmonares de tortugas marinas ante diferentes neurotransmisores simpático-miméticos y parasimpático-miméticos reforzarían esta hipótesis (García-Párraga et al., 2018a). Este artículo en particular, trató de dar explicación a la fisiopatología del proceso mediante el estudio de la funcionalidad in vitro de los esfínteres musculares presentes de forma exclusiva en la arteria pulmonar de las tortugas marinas tal y como se describen en nuestro trabajo más reciente sobre la anatomía cardiovascular de estas especies (Garcia-Parraga et al., 2017). Con el atrapamiento prolongado en profundidad y la estimulación traumática producida durante el arrastre, se podría solubilizar y acumular suficiente nitrógeno en los tejidos como para generar un grado de EG suficiente que pudiese ocasionar daños en el animal llevándolo incluso a una muerte retardada. A raíz del estudio de estos mecanismos de bypass pulmonar para evitar la descompresión en las tortugas, también publicamos en 2018 una nueva teoría sobre un posible mecanismo análogo al de las tortugas a nivel funcional, que se podría dar en el caso de los mamíferos marinos, a pesar del impedimento anatómico para inducir un shunt intracardiaco (García-Párraga et al., 2018b).

D–FACTORES DE RIESGO, IMPACTO POBLACIONAL Y FUTUROS ESTUDIOS DE INTERÉS

A raíz de este primer estudio demostrando la existencia de enfermedad, entendemos que la DCS se debería considerar y tratar de descartar para todas aquellas tortugas marinas que hayan sido capturadas accidentalmente en profundidad. En base a nuestra experiencia inicial, no parecían requerirse grandes profundidades para que se pudiera llagar a dar la descompresión de los animales, ya que contamos con casos diagnosticados capturados en aparejos fondeados a solo 10 m de profundidad. A lo largo de estos años hemos podido generar nueva información en este sentido que presentaremos en los siguientes capítulos. A día de hoy, desconocemos el límite exacto y las condiciones ambientales precisas bajo las cuales se produce la DCS, pero ya contamos con información preliminar relevante sobre algunos posibles factores de riesgo que publicamos de forma preliminar en 2017 (Fahlman et al., 2017a) y desarrollaremos más adelante a lo largo de esta Tesis.

La susceptibilidad a la DCS en tortugas marinas y su falta de consideración hasta el momento, implicaría que las estimaciones actuales de mortalidad causada por pesquerías podrían ser muy inferiores a las reales. Esta información sobre el posible impacto de la enfermedad sería por tanto de gran trascendencia de cara al establecimiento de nuevas estrategias de mitigación para la conservación de las poblaciones de tortugas y supone el trabajo de continuación de esta Tesis. Como esta afección puede llevar a reducir su supervivencia, existe una necesidad real de continuar realizando estudios adicionales que evalúen la incidencia de la EG en tortugas marinas incluyendo todas las tipologías de pesquerías que puedan producir un atrapamiento en profundidad y a todas las especies de tortugas marinas a nivel global. A su vez, este conocimiento ayudará a mejorar las estimaciones de mortalidad asociada a la pesca en las tortugas marinas y orientar las acciones de gestión para su conservación (Lewison et al., 2004a). Se debe continuar trabajando en el desarrollo de nuevas medidas efectivas de mitigación, así como en su aplicación, prestando especial consideración a los tipos de artes de pesca, las profundidades y tiempos de calado, así como en las zonas donde existe mayor probabilidad de interacción que puedan llevar al EG/DCS.

V – CONCLUSIONES

Este primer capítulo trata de aportar toda la información necesaria para evidenciar y demostrar con el menor margen de duda, la existencia de la DCS en las tortugas marinas e indagar sobre los posibles mecanismos para su desencadenamiento. Aportamos pruebas sólidas de que las tortugas marinas capturadas accidentalmente pueden desarrollar EG y morir como consecuencia de la DCS. El diagnóstico se basa en los signos clínicos, la detección de gas intravascular mediante técnicas de imagen y la necropsia, el análisis de la composición del gas, y el éxito en la resolución del gas intravascular y la sintomatología clínica asociada mediante tratamiento hiperbárico.

Como esta afección puede llevar a reducir su supervivencia, existe una necesidad real de continuar realizando estudios adicionales que evalúen la incidencia de la EG/DCS en tortugas marinas incluyendo todas las tipologías de pesquerías que puedan producir un atrapamiento en profundidad y a todas las especies de tortugas marinas a nivel global. A su vez, este conocimiento ayudará a mejorar las estimaciones de mortalidad asociada a la pesca en las tortugas marinas y orientar las acciones de gestión para su conservación (Lewison et al., 2004a).

Este descubrimiento tiene implicaciones importantes para la conservación de las tortugas. Sería relevante a la luz de estos hallazgos, la realización de una nueva revisión general de las capturas accidentales de tortugas marinas en todo el mundo contemplando la posibilidad de esta nueva enfermedad como una nueva causa de muerte subyacente. Es esencial disponer de más datos sobre la incidencia real de la afección asociada a diferentes artes de pesca, zonas geográficas, condiciones oceánicas, especies de tortugas marinas y características individuales para conocer su verdadero alcance y poder establecer medidas para cuando sea posible evitar o al menos mitigar sus efectos. Es precisamente en este ámbito en el que se desarrollarán los próximos capítulos de esta tesis.

VI – BIBLIOGRAFÍA

Barratt, D.M., P.G. Harch, and K. Van Meter. 2002. Decompression illness in divers: a review of the literature. *The Neurologist* 8:186-202.

Berkson, H. 1966. Physiological adjustments to prolonged diving in the Pacific green turtle (Chelonia mydas agassizii). *Comparative Biochemistry and Physiology* 18:101-119.

Berkson, H. 1967. Physiological adjustments to deep diving in the pacific green turtle (Chelonia mydas agassizzii). *Comparative Biochemistry and Physiology* 21:507-524.

Bernaldo de Quirós, Y., O. González-Díaz, A. Møllerløkken, A.O. Brubakk, A. Hjelde, P. Saavedra, and A. Fernández. 2013. Differentiation at autopsy between in vivo gas embolism and putrefaction using gas composition analysis. *International Journal of Legal Medicine* 127:437-445.

Chrisman, C.L., M. Walsh, J.C. Meeks, H. Zurawka, R. LaRock, L. Herbst, and J. Schumacher. 1997. Neurologic examination of sea turtles. *Journal-American Veterinary Medical Association* 211:1043-1047.

De Quirós, Y.B., O. González-Díaz, A. Møllerløkken, A.O. Brubakk, A. Hjelde, P. Saavedra, and A. Fernández. 2013. Differentiation at autopsy between in vivo gas embolism and putrefaction using gas composition analysis. *International journal of legal medicine* 127:437-445.

Fahlman, A., J.L. Crespo-Picazo, B. Sterba-Boatwright, B.A. Stacy, and D. Garcia-Parraga. 2017. Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in trawls and gillnets. *Scientific reports* 7:1-7.

Fernandez, A., J.F. Edwards, F. Rodriguez, A.E. de los Monteros, P. Herraez, P. Castro, J.R. Jaber, V. Martin, and M. Arbelo. 2005. "Gas and fat embolic syndrome" involving a mass stranding of beaked whales (Family Ziphiidae) exposed to anthropogenic sonar signals. *Veterinary Pathology* 42:446-457.

Flint, M., J. Patterson-Kane, P. Mills, and C. Limpus. 2009. A veterinarian's guide for sea turtle post mortem examination and histological investigation. In The University of Queensland, Brisbane, Australia.

Francis, T.J.R., and J.M. Simon. 2003. Pathology of Decompression Sickness. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 530-556.

García-Párraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y. Bernaldo de Quirós, V. Cervera, L. Martí-Bonmati, J. Díaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernández. 2014. Decompression Sickness ("the bends") in Sea Turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 111:191-205.

García-Párraga, D., T. Lorenzo, T. Wang, J.-L. Ortiz, J. Ortega, J.-L. Crespo-Picazo, J. Cortijo, and A. Fahlman. 2018a. Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Journal of Experimental Biology* 221:jeb179820.

García-Párraga, D., M. Moore, and A. Fahlman. 2018b. Pulmonary ventilation– perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. *Proceedings Royal Society B* 285:20180482.

Garcia-Parraga, D., A.L.S. Valente, B.A. Stacy, and J. Wyneken. 2017. Cardiovascular System. In Sea Turtle Health and Rehabilitation. C.A. Manire, T.M. Norton, B.A. Stacy, C.A. Harms, and C.J. Innis, editors. 295-320.

Gardette, B. 1979. Correlation between decompression sickness and circulating bubbles in 232 divers. *Undersea biomedical research* 6:99-107.

Gredzens, C., and D.J. Shaver. 2020. Satellite tracking can inform population-level dispersal to foraging grounds of post-nesting Kemp's ridley sea turtles. *Frontiers in Marine Science*

Harms, C.A., K.M. Mallo, P.M. Ross, and A. Segars. 2003. Venous blood gases and lactates of wild loggerhead sea turtles (Caretta caretta) following two capture techniques. *Journal of Wildlife Diseases* 39:366-374.

Hochscheid, S., F. Bentivegna, M.N. Bradai, and G.C. Hays. 2007. Overwintering behaviour in sea turtles: dormancy is optional. *Marine Ecology Progress Series* 340:287-298.

Jepson, P.D., M. Arbelo, R. Deaville, I.A.P. Patterson, P. Castro, J.R. Baker, E. Degollada, H.M. Ross, P. Herraez, A.M. Pocknell, F. Rodriguez, F.E. Howie, A. Espinosa, R.J. Reid, J.R. Jaber, V. Martin, A.A. Cunningham, and A. Fernandez. 2003. Gas-bubble lesions in stranded cetaceans - Was sonar responsible for a spate of whale deaths after an Atlantic military exercise? *Nature* 425:575-576.

Lewison, R.L., L.B. Crowder, A.J. Read, and S.A. Freeman. 2004. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. *Trends in Ecology & Evolution* 19:598-604.

Lutcavage, M.E., and P.E. Lutz. 1997. Diving physiology. In The biology of sea turtles. P.L. Lutz, and J.A. Musick, editors. CRC Press, New York.

Lutz, P.L., and B.B. Bentley. 1985. Physiology of Diving in the Sea Turtle. *Copeia* 1985:671-679.

Lutz, P.L., and A. Dunbar-Cooper. 1987. Variations in the blood-chemistry of the loggerhead sea-turtle, *Caretta caretta*. *Fishery Bulletin* 85:37-43.

Neuman, T., D. Hall, and J.P. Linaweaver. 1976. Gas phase separation during decompression in man: ultrasound monitoring. *Undersea biomedical research* 3:121-130.

Omeyer, L.C., W.J. Fuller, B.J. Godley, R.T. Snape, and A.C. Broderick. 2019. The effect of biologging systems on reproduction, growth and survival of adult sea turtles. *Movement ecology* 7:1-12.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Garcia-Parraga, B. Stacy, and C. Harms. 2017. Fisheries and sea turtles. *Sea Turtle Health and Rehabilitation (eds. Manire, CA, TM Norton, BA Stacy, CJ Innis & CA Harms. Pp. 859-897. J Ross Publishing: Plantation, FL, USA*

Paulev, P. 1965. Decompression sickness following repeated breath-hold dives. *Journal of Applied Physiology* 20:1028-&.

Sawatzky, K.D. 1993. The relationship between intravascular Doppler-detected gas bubbles and decompression sickness after bounce diving in humans.

Snoddy, J.E., M. Landon, G. Blanvillain, and A. Southwood. 2009. Blood Biochemistry of Sea Turtles Captured in Gillnets in the Lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Journal of Wildlife Management* 73:1394-1401.

Snoddy, J.E., and A. Southwood Williard. 2010. Movements and post-release mortality of juvenile sea turtles released from gillnets in the lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Endangered Species Research* 12:235-247.

Southwood, A.L. 2013. Physiology as integrated systems. In The biology of sea turtles. J. Wyneken, K.J. Lohmann, and J.A. Musick, editors. CRC, 1-30.

Thomson, J.A., and M.R. Heithaus. 2014. Animal-borne video reveals seasonal activity patterns of green sea turtles and the importance of accounting for capture stress in short-term biologging. *Journal of experimental marine biology and ecology* 450:15-20.

Vann, R.D., F.K. Butler, S.J. Mitchell, and R.E. Moon. 2011. Decompression illness. *The Lancet* 377:153-164.

Williams, C.L., K. Sato, and P.J. Ponganis. 2019. Activity, not submergence, explains diving heart rates of captive loggerhead sea turtles. *Journal of Experimental Biology* 222:jeb200824.



CAPÍTULO 2

Consideraciones clínicas sobre la enfermedad: avances en el diagnóstico y tratamiento

VI- CAPÍTULO 2: CONSIDERACIONES CLÍNICAS SOBRE LA ENFERMEDAD: AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

I – INTRODUCCIÓN

El presente capítulo responde al segundo de nuestros objetivos: cuales son los aspectos clave para el diagnóstico adecuado y el tratamiento de la DCS en tortugas marinas. Como hemos venido mencionando, esta es una nueva entidad patológica descrita en tortugas y como tal, no está bien caracterizada a nivel clínico. A continuación, trataremos de compilar la experiencia acumulada a lo largo de los últimos 10 años tratando tortugas marinas afectadas procedentes de la pesca accidental, con el fin facilitar el trabajo de los veterinarios de centros de recuperación que reciben animales capturados accidentalmente para así maximizar las posibilidades de éxito. Del mismo modo, este capítulo también recopila y hace una revisión del diagnóstico *post mortem* identificando las principales lesiones macroscópicas y hallazgos de necropsia observados en animales que han muerto o que se han visto afectados por la enfermedad. Esto es especialmente importante en los estudios para el establecimiento de causas de muerte en especies amenazadas, con el fin de poder cuantificar mejor el verdadero impacto de las pesquerías en estas poblaciones.

El presente capítulo parte por tanto de las técnicas de estudio iniciales referenciadas en el capítulo anterior donde se describe por primera vez la enfermedad (García-Párraga et al., 2014), pero caracterizando mucho mejor y con más detalle la enfermedad a partir del estudio de un número de casos muy superior. Se estudiarán tanto los signos clínicos como las lesiones más frecuentes y se describirán nuevas técnicas tanto de diagnóstico como de tratamiento con el fin de generar conocimiento que permita maximizar el éxito de recuperación.

En medicina hiperbárica, las técnicas más comunes empleadas para detectar burbujas de gas intravasculares son los transductores de flujo Doppler y la ecocardiografía bidimensional (Møllerløkken

et al., 2016). Estas dos técnicas se utilizan como indicadores de estrés de descompresión en buceadores (Møllerløkken et al., 2016; Pollock, 2007). A nivel clínico, además de la radiología y la ecografía, el EG y muy especialmente sus consecuencias orgánicas también son detectables por otras técnicas de diagnóstico por imagen más avanzadas, incluyendo el TC y la resonancia magnética (James and Jain, 2017; Plattner et al., 2003). Estas técnicas, así como la información que se puede extractar de las mismas, también se discutirán en el presente capítulo.

Como hemos visto, el diagnóstico *ante mortem* de DCS, por definición, sólo se puede alcanzar mediante la reversión de los signos clínicos tras el tratamiento en cámara hiperbárica (Ferrigno and Lundgren, 2003). No es por tanto una enfermedad que se pueda confirmar en base a un diagnóstico post mortem, sólo sugerir en base a la historia clínica y las lesiones observadas. La efectividad de la terapia hiperbárica en el tratamiento de las tortugas afectadas por la enfermedad se pudo evidenciar desde un primer momento incluso aplicando protocolos de recompresión muy similares a los empleados en humana como ya se expuso en el primer capítulo (García-Párraga et al., 2014). Sin embargo, el presente capitulo, parte de la demostración de la enfermedad y propone las mejoras y modificaciones necesarias para mejorar la eficacia del tratamiento, así como alternativas terapéuticas para cuando esté no estuviera disponible.

El diagnóstico *post mortem* en algunos casos puede ser complejo sin una historia previa de descompresión y la demostración previa de la embolia mediante técnicas de imagen en el paciente vivo o en los cadáveres frescos antes de su disección. El gas puede penetrar fácilmente en los vasos sanguíneos y algunos tejidos durante la disección y algunas bacterias generadoras de gas también podrían producir artefactos (Bernaldo de Quirós et al., 2012; Bernaldo de Quirós et al., 2013a). De ahí que la realización de pruebas de imagen en cadáveres antes de la necropsia es otra de las técnicas que abordaremos ya que puede ayudar mucho en el diagnóstico a la hora de dilucidar la significatividad clínica ante la aparición de gas intravascular (Plattner et al., 2003; Varlet et al., 2015).

II – MATERIALES Y MÉTODOS

El presente capítulo parte de la misma metodología presentada en el capítulo anterior pero amplia básicamente el periodo de estudio tras el descubrimiento de la enfermedad, de 4 a 10 años y el número de animales estudiados de 67 a 435. Asimismo, a lo largo de este periodo, también se van mejorando y completando las técnicas de diagnóstico y tratamiento que son de hecho los aspectos que destacaremos principalmente en este apartado sobre la metodología.

A – ADQUISICIÓN DE LOS ANIMALES

Al igual que sucediera en el capítulo anterior, todas las tortugas marinas incluidas en este proyecto procedieron de aguas de la Comunidad Valenciana bajo la autorización pertinente que ofrece el Acuerdo Oficial de Colaboración entre la Consellería de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica de la Comunitat Valenciana y el Oceanográfic de la 'Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia' para la rehabilitación y posterior liberación de los animales recibidos heridos o enfermos así como para la realización de necropsias y estudios *post mortem* de los ejemplares muertos.

Los casos incluidos en este recopilatorio sobre el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad proceden de las tortugas entregadas por los pescadores tras su captura accidental a lo largo de un periodo establecido entre el 1 de enero de 2011 al 31 de diciembre de 2020. Durante este período se recibieron un total de 435 tortugas bobas capturadas accidentalmente fundamentalmente por artes de trasmallo y arrastre a profundidades que variaron desde los 3 a los 100m. Únicamente 3 ejemplares fueron entregados por una pesquería de palangre de fondo y otros 4 aparecieron varados o flotando muertos en puertos pesqueros con signos de interacción evidente con pesquerías por lo que se decidió su inclusión en el estudio como capturas accidentales. En el siguiente cuadro resumen se incluye el número de ejemplares que ingresaron vivos y muertos según la pesquería a lo largo de todo el periodo:

Tabla 2: Numero de ingresos dependiendo de la pesquería. Los casos de arrastre son más numerosos pero la mortalidad de tortugas asociada al trasmallo es muy superior probablemente porque las artes permanecen muchas más horas sumergidas.

	Arrastre	Trasmallo	Otros	Total
Número de Ingresos totales	272	156	7	435
Muertes al ingreso	18	43	2	63
% Muertes al ingreso	6,62%	27,56%	28,57%	14,48%

En el siguiente gráfico se muestra el origen de las capturas entregadas en función de su procedencia:

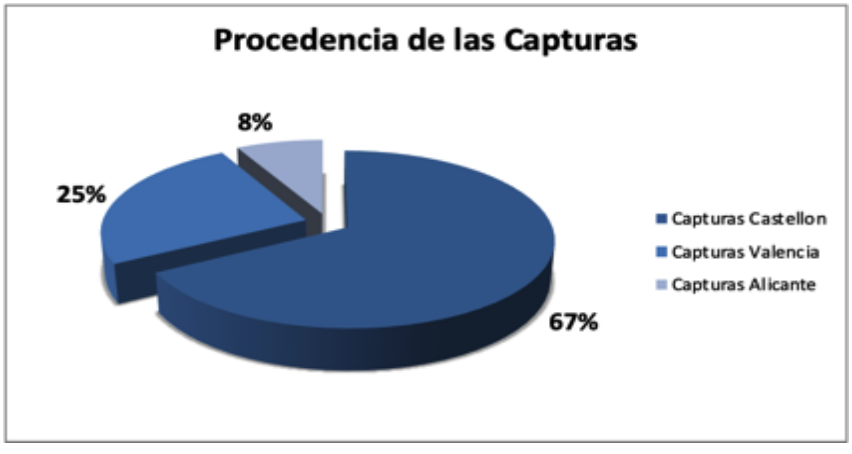


Figura 26: Distribución de los casos en función de su origen. Nótese como la mayoría de los ingresos de tortugas a lo largo de los últimos 10 años procedieron de la región de Castellón, donde la plataforma continental se extiende aguas adentro y se permite el arrastre a profundidades menores de 50m.

Las 372 tortugas recibidas vivas se sometieron a un examen clínico completo. En el caso de los cadáveres (63 muertos al ingreso y 15 durante el proceso de recuperación) los animales se sometieron a una necropsia ordenada, sistemática y completa y a una toma de muestras para un posterior estudio histopatológico de los órganos y tejidos. Siempre que se pudo, se aplicaron también técnicas de imagen en los cadáveres (fundamentalmente radiografía y tomografía) con el fin de poder evidenciar la presencia, cantidad y distribución de gas intravascular antes de iniciar la necropsia.

Adicionalmente en todos los casos se trató de registrar la máxima información incluyendo la fecha de captura, tamaño del animal, y cuando fue posible los parámetros ambientales reportados por el pescador incluyendo tanto la profundidad de calado del aparejo como los tiempos de arrastre o calado del trasmallo. De forma complementaria como una variable ambiental adicional se estimó para cada animal entregado la temperatura diaria de la superficie del mar en el puerto de origen de los barcos

pesqueros de acuerdo con SeaTemperature (www.seatemperature.org; visitada el 1 de febrero de 2021). Esta información será relevante para el establecimiento de los posibles factores de riesgo de la enfermedad que trataremos en el capítulo 3 de esta Tesis Doctoral.

Por último, se registraron las observaciones de los pescadores relacionadas con la situación y el comportamiento de las tortugas a bordo inmediatamente tras la captura y su evolución en el tiempo, información que es relevante desde el punto de vista del diagnóstico y la evolución clínica.

B – DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Como ya viéramos en el capítulo anterior, todas las tortugas entregadas vivas fueron examinadas en las primeras 24 h (en un promedio estimado de 12h desde la hora reportada de captura).

La evaluación clínica rutinaria a la llegada al centro incluía el examen físico y neurológico completo basado en Chrisman et al., (1997) así como los estudios de hematología y bioquímica completas y de imagen mediante radiografía y ecografía. En 42 de los casos más relevantes compatibles con DCS (14 de trasmallo y 28 de arrastre) se incluyeron además estudios complementarios pormenorizados mediante tomografía computerizada con el fin de mapear y cuantificar mejor el grado de embolismo y la eficacia del tratamiento. La mayoría de estas adquisiciones se realizaron desde 2018 en adelante, fecha en la que se instaló un tomógrafo en el hospital veterinario del Oceanográfic,

Las muestras de sangre se tomaron y analizaron de forma rutinaria de todos los animales en los que fue posible el mismo día del acceso y siguiendo el procedimiento ya mencionado en el capítulo anterior, incluyendo un total de 140 individuos (66 sin EG, 30 con EG leve, 33 con EG moderado y 11 con EG severo). Los parámetros medidos incluyeron tanto parámetros de hematología como de bioquímica sanguínea. En hematología se incluyó: hemoglobina, hematocrito (por microcentrifugación), RBC, WBC total (manual), heterófilos, linfocitos, monocitos y eosinófilos. En bioquímica plasmática: glucosa, BUN, creatinina, bilirrubina total, bilirrubina directa, colesterol, proteínas totales (por colorimetría), albúmina, fosfatasa alcalina (ALKP), alanin-aminotransferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), gamma glutamil transferasa (GGT), creatin kinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH), calcio, fósforo, ratio Ca/P, sodio, potasio, cloro, hierro, ácido úrico y triglicéridos.

Con el fin de ver si existían diferencias significativas en la paramétrica sanguínea entre los diferentes

grados de embolismo y con la mortalidad, se hizo un análisis estadístico univariante de los resultados de 140 animales procedentes de pesquerías agrupando los diferentes ejemplares en 4 categorías en base a su grado de afectación: sin embolismo, leve, moderado o grave. Posteriormente se repitió el análisis univariante de cada uno de los diferentes parámetros sanguíneos agrupados en base a la supervivencia del paciente.

Inicialmente se realizó un análisis de completitud, seguido de un análisis descriptivo de las variables, tanto visual como numérico calculando la frecuencia, media, desviación estándar, mínimo, máximo, y percentiles (25, 50 y 75) para cada uno de los parámetros sanguíneos. Posteriormente, se realizaron diferentes análisis estadísticos:

- La condición de normalidad de cada uno de los parámetros sanguíneos se determinó mediante los métodos Shapiro (Shapiro and Wilk, 1965) y D'Agostino (D'Agostino and Pearson, 1973; D'Agostino, 1971).

- La asociación de las variables analíticas con la mortalidad total y la presencia de EG se analizó mediante la prueba de Mann-Whitney (Mann and Whitney, 1947).

- Para estudiar la asociación entre la paramétrica sanguínea y la severidad de EG se utilizó el test de Kruskal-Wallis (Kruskal and Wallis, 1952), seguido de un análisis post hoc de las variables que resultaron significativas (Nemenyi, 1963).

- Finalmente, el grado correlación entre las distintas variables se determinó mediante el método Spearman (Dodge, 2008).

Se determinó que un resultado es significativo si el valor p obtenido es menor que 0.05.

Tanto el procesado de la base de datos como los análisis estadísticos se realizaron mediante el software Spyder (v4.1.4) con la versión 3.8.3 de Python y los paquetes pandas (v1.0.5), numpy (v1.18.5), scipy (v1.5.0) y matplotlib (v3.2.2).

Los estudios de diagnóstico por imagen se realizaron siguiendo los protocolos e incluyendo los mismos equipos anteriormente mencionados en la fase de descubrimiento de la enfermedad, pero además se incluyeron los siguientes equipos nuevos:

- Un flat panel de radiología directa Varex XRPad2 4336 HWC de 35x43cm (Varex Imaging) y un programa de procesado de imagen Capture&View Aqua desarrollado por Digirad y adaptado para nosotros desde febrero de 2019

- Tomógrafo Siemens Somatom Volume Zoom 4 (Siemens Medical) instalado en el propio hospital veterinario del Oceanográfic en enero 2018.
- Resonancia Magnética Philips Diamond Select Achieva 3.0T-TX (Philips Medical) instalada en la Plataforma de Radiología Experimental del Instituto de Investigación Sanitaria la Fe de Valencia.

En complemento a las técnicas de radiología simple y TC, se realizaron estudios de resonancia magnética tras el tratamiento hiperbárico a 6 ejemplares supervivientes a DCS (2 de trasmallo y 4 de arrastre) con el fin de poder evidenciar la presencia de secuelas o lesiones subletales.



Figura 27: El autor preparando una tortuga días después de su recuperación del accidente descompresivo para su exploración en la Resonancia Magnética Nuclear ubicada en la Plataforma de Radiología Experimental del IIS-La FE con el fin de poder detectar posibles secuelas.

Los criterios de clasificación de severidad del embolismo a su llegada al CR en base a la cantidad y distribución de gas intravascular y en tejidos detectado por las técnicas de diagnóstico por imagen que se describieron en el capítulo anterior según nuestra publicación de referencia (García-Párraga et al., 2014), se mantuvieron a lo largo de los 10 años de estudio categorizando los animales ingresados como: sin embolismo, o con embolismo leve, moderado o severo.

C – TRATAMIENTO

Durante los primeros años de estudio y hasta la publicación sobre la presencia de la enfermedad en tortugas en 2014, los individuos sin signos clínicos o con un grado de embolismo leve detectado mediante las técnicas de imagen no recibieron ningún tratamiento específico de apoyo a su llegada. Sólo recibían tratamiento de soporte temporal con oxigenoterapia normobárica, fluidoterapia o terapia medicamentosa de emergencia (según se describe en la metodología del capítulo anterior) los individuos letárgicos o apáticos o que exhibían signos neurológicos.

La adaptación de un autoclave como cámara hiperbárica para realizar la primera recompresión experimental con oxígeno puro tuvo lugar en enero de 2013 (García-Párraga et al., 2014), y se aplicó a 2 tortugas con embolismo moderado empleando el protocolo de recompresión-descompresión más comúnmente usado en medicina humana (Vann et al. 2011): inicialmente se presurizaron los animales a 1,8 atm (2,8 ATA) durante 1 h para luego ir disminuyendo la presión a 1 atm (2 ATA) a lo largo de los siguientes 30 min hasta estabilizar la cámara en 1 atm (2 ATA) durante otras 3h. Finalmente se procedió a una descompresión gradual y progresiva hasta alcanzar la presión de superficie (0 atm de presión relativa, 1 ATA) a lo largo de otros 30 min.

Posteriormente se encargó la construcción de una cámara hiperbárica de tratamiento de mayor tamaño que pudiese alojar tortugas más grandes (hasta 61cm de LCC y unos 30 kg de peso) y dotado de una ventana de acrílico en la tapa (superior) para poder hacer seguimiento del paciente (**Figura 28**). Con esta cámara adquirida en 2014, se empezaron a tratar ya todas las tortugas en las que se confirmó la presencia de gas intravascular (aunque fuesen casos leves), independientemente de que presentasen o no sintomatología clínica. En esta segunda cámara la presión máxima alcanzada era también de 1,8 atm (2,8 ATA) la cual se mantenía por 2 horas para caer progresivamente a lo largo de las 4 horas siguientes para estabilizarse en 0,9 atm (1,9 ATA). En esta segunda cámara los tratamientos se mantuvieron periodos más largos de tiempo pues con el ciclo estándar de 5 h los animales seguían saliendo con algo de gas intravascular. Los tratamientos promedio se mantuvieron por tanto un periodo de 12-14 horas en total: 12 horas entre 2,8 y 1,9 ATA y 2 horas más para bajar de 1,9 a 1 ATA.

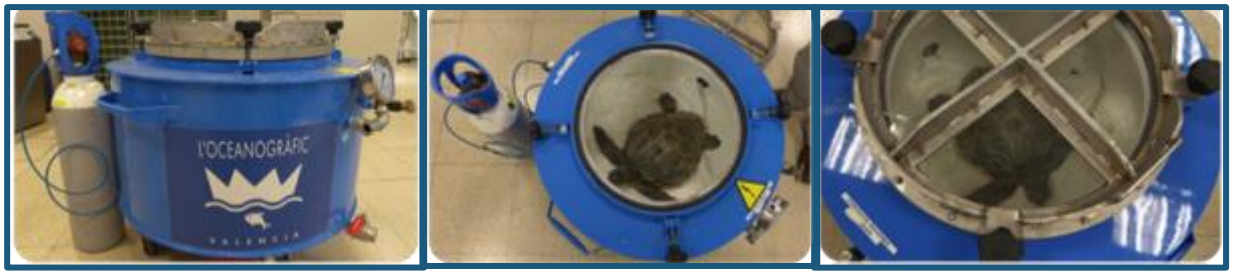


Figura 28: Ejemplar mediano de tortuga boba en el interior de una cámara hiperbárica específicamente adaptada para el tratamiento en tortugas marinas. La cámara cuenta con manómetro, válvula de seguridad y conexión al cilindro de oxígeno. La presencia de una ventana de acrílico reforzada en la tapa permite observar la evolución del animal durante el tratamiento.

Más recientemente (mediados de 2020) se adquirió una nueva cámara hiperbárica homologada para su uso en personas Oxylife 90 (Oxybarica) (**Figura 29**). A esta cámara también se le realizaron algunas adaptaciones para poder introducir tortugas de todos los tamaños (incluidas las adultas) y en principio se mantiene operativa hasta día de hoy trabajando de momento con el mismo protocolo que la anterior. Esta nueva cámara de reciente adquisición podría soportar presiones algo más elevadas (de hasta 3 ATA) y facilitar también la recirculación/renovación del gas comprimido o emplear mezcla de gases en futuras investigaciones sobre la terapia hiperbárica en estos y otros animales.

Los 135 animales tratados con terapia HBOT durante todos estos años de trabajo (110 procedentes de arrastre y 25 de trasmallo) que se sometieron a los ciclos de recompresión-descompresión fueron evaluados en todos los casos mediante radiología simple y ecografía antes e inmediatamente después del tratamiento. Adicionalmente 16 de estos casos también fueron evaluados mediante estudios de TC. Inicialmente cuando sólo contábamos con el autoclave adaptado como cámara hiperbárica, sólo aquellas tortugas con un ancho de caparazón en recto menor de 30 cm eran susceptibles de ser tratados con oxígeno hiperbárico (HBOT) debido al limitado tamaño de la boca del autoclave. Posteriormente con la segunda cámara pudimos tratar ejemplares bastante más grandes (de hasta 61cm de LCC). Los individuos más grandes que no cabían en las cámaras disponibles en cada momento recibieron tratamiento médico de soporte y oxígeno normobárico durante varias horas en cubas de transporte selladas con film plástico y conectadas a un concentrador de oxígeno. Los ejemplares adultos o con longitudes de caparazón superiores 61cm no se pudieron someter a recompresión hasta la llegada de la última cámara de mayores dimensiones.



Figura 29: Cámara hiperbárica Oxylife 90 de uso comercial para su empleo en medicina humana. Esta cámara de nueva adquisición cuenta con una adaptación en la que se sustituye la camilla por una bandeja de inoxidable y permite tratamientos de ejemplares de gran tamaño, a presiones más elevadas y con mezcla de gases. Cuenta demás con ventanas que son de vital importancia porque permiten la observación y monitorización del paciente durante el proceso.

D – EXAMEN POST MORTEM

Las necropsias fueron realizadas de forma estandarizada siguiendo el protocolo de Flint et al., (Flint et al., 2009). Todos los casos de muerte (79 en total a lo largo del periodo), se necropsiaron en la mayoría de los casos dentro de las primeras 24 horas tras la recuperación de las tortugas de las artes de pesca o en menos de 12 horas en los 16 casos de muerte que causaron baja en el centro de rehabilitación. Se prestó especial atención para evitar la formación de artefactos por infiltración de aire atmosférico y se documentaron todos los hallazgos patológicos y lesionales con fotografías. Asimismo, se tomaron muestras de histopatología rutinarias de múltiples órganos y tejidos incluyendo piel, músculo, grasa prefemoral, hígado, bazo, corazón, grandes vasos cardiacos, cerebro, intestino,

glándula de la sal, plastrón, glándula tiroides, ambos riñones, ambos pulmones, ambas gónadas y de cualquier lesión macroscópica observable. Los tejidos fueron fijados en formol tamponado al 10% y almacenados en el banco de tejidos para su posterior análisis histopatológico. Los resultados de la histopatología no son objeto de este trabajo de Tesis Doctoral que se centra más en el diagnóstico clínico-patológico (a nivel macroscópico) y tratamiento inicial de la enfermedad.

III – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente apartado trataré de extractar la mejor aproximación clínica frente a la enfermedad en lo referente al diagnóstico y el tratamiento en el paciente afectado en base a la experiencia y conocimiento generados a lo largo de estos 10 años de estudio. De las 435 tortugas entregadas por pescadores, 249 (un 57,24%) presentaban algún grado de EG a su llegada al CR. En base a nuestra experiencia con estos 249 casos, hemos querido desarrollar este capítulo sobre los criterios y las mejores herramientas diagnósticas y terapéuticas en el manejo de la enfermedad.

Con el fin de hacer la lectura más cómoda y sencilla para el veterinario clínico de tortugas como principal usuario de la información presentada en este capítulo, he decidido incluir los resultados e ir comentándolos a lo largo del texto fusionando resultados y discusión. Relacionado con este objetivo, publiqué en 2017 como coautor un capítulo sobre tortugas marinas y pesquerías en el único libro de referencia existente sobre medicina de tortugas marinas, donde tratamos bastante en profundidad los conocimientos hasta el momento de la DCS en estas especies (Parga et al., 2017). Posteriormente, ya en 2019, escribí como autor principal un capítulo en la última edición del libro de referencia en medicina de zoo y fauna salvaje: Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, sobre medicina hiperbárica en especies acuáticas (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019). Adicionalmente en el campo diagnostico también participé en la publicación de un artículo científico que se centra más concretamente en el uso de la técnica de espirometría en tortugas marinas como herramienta diagnóstica a la hora de detectar la enfermedad y grado de afectación del animal, así como para medir la adecuación de la respuesta al tratamiento hiperbárico (Portugues et al., 2018).

A – APORTACIONES CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO *IN VIVO*

El diagnóstico de la enfermedad incluye la historia clínica de los animales proporcionada por el pescador (tipo de arte de pesca, duración del lance del aparejo (asociado al tiempo de inmersión), profundidad, temperatura del agua, condición inicial del animal tras la recuperación del arte y la progresión a través del tiempo, los signos clínicos observables en la exploración clínica externa, y las pruebas diagnósticas complementarias). A día de hoy, las pruebas de diagnóstico por imagen incluyendo radiografías, ecografía y la tomografía computada (TC) suponen la aproximación clínica más práctica y fiable para diagnosticar con precisión el EG en estos animales.

A.1- LA HISTORIA CLÍNICA Y EXAMEN FÍSICO GENERAL

Las tortugas vivas afectados por DCS en general, muestran escasos signos clínicos observables y estos pueden ser fácilmente pasados por alto o incluso pueden ser confusos. Es por tanto esencial que exista un alto grado de cooperación entre el pescador y los veterinarios que se encargan de la atención y rehabilitación del animal, ya que los primeros pueden ofrecer una valiosa información que ayude a los segundos al diagnóstico y tratamiento precoz. Es de gran ayuda en el diagnóstico poder contar con la máxima información proporcionada por el pescador sobre la condición inicial en la que se recuperó al animal del aparejo, los signos clínicos y su progresión en el tiempo (en especial porque normalmente se tarda varias horas desde que son capturados hasta su ingreso en un centro de rehabilitación). De forma similar a lo que se observa en los seres humanos con DCS (Vann et al., 2011), los síntomas de la DCS son causados de forma directa o indirectamente por los daños mecánicos, embólicos/ isquémicos y los efectos bioquímicos de la formación de burbujas intra y extravasculares que se van formando con el paso del tiempo por lo que la cronología en esta enfermedad es muy importante.

En cuanto al examen físico general, la gran mayoría de los ejemplares procedentes de la pesca suelen presentar una buena condición corporal con unas reservas grasas adecuadas salvo que presenten algún otro proceso concomitante. Además, pueden mostrar lesiones externas típicas asociadas con traumatismos como consecuencia del enmallamiento en la red, la fricción por arrastre o los golpes en la cubierta del barco (**Figura 30**). La evaluación de este tipo de lesiones es también importante para la interpretación del estado general del animal en su conjunto.

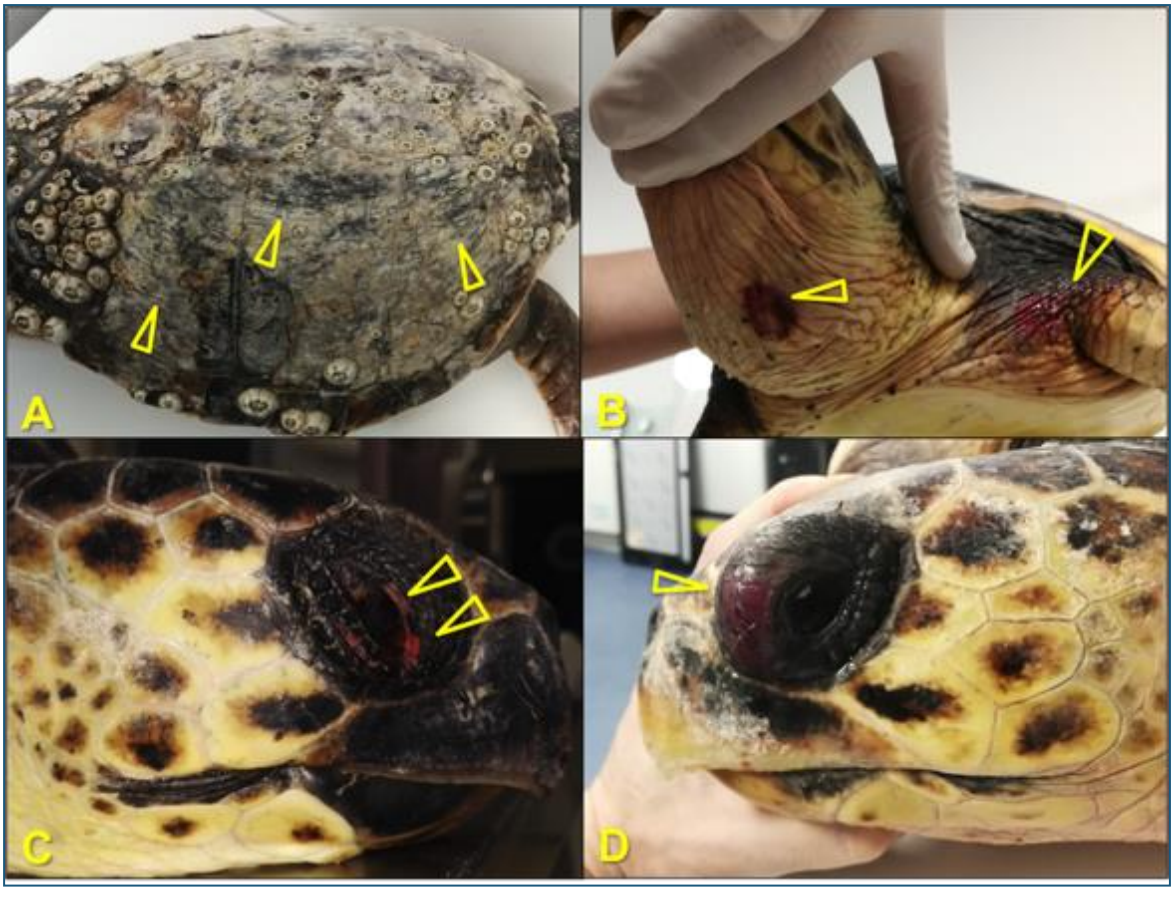


Figura 30: Principales hallazgos externos en tortugas marinas capturadas accidentalmente por pesquerías de arrastre en la Comunidad Valenciana. A) Escoriaciones típicas a nivel del espaldar asociadas al proceso de arrastre. Nótense las líneas a modo de arañazos por todo el caparazón. B) Lesiones traumáticas en la piel del cuello y en la inserción de la aleta pectoral izquierda. C) Escoriaciones a nivel de la piel del borde palpebral. D) Lesión traumática en la parpado superior. La piel de los párpados es muy fina y de forma frecuente puede evidenciar lesiones en animales procedentes de pesca de arrastre.

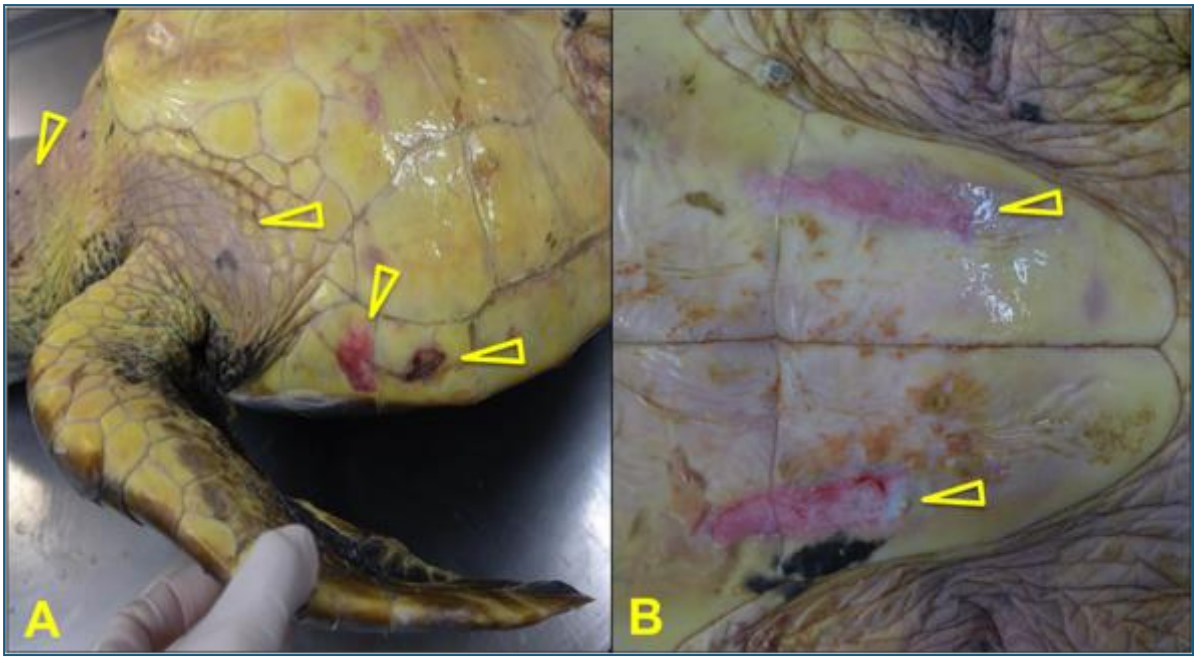


Figura 31: Lesiones sufridas por el arrastre en la región ventral de las tortugas. A heridas en las placas córneas del plastrón en la región axilar. También se pueden observar zonas de abrasión dérmica con pérdida del estrato córneo superficial en la región ventral del cuello y base de la aleta pectoral. B Heridas por abrasión en la región ventral posterior del plastrón (zona inguinal), donde ha desaparecido todo el espesor del escudo córneo dejando expuesto el hueso subyacente.

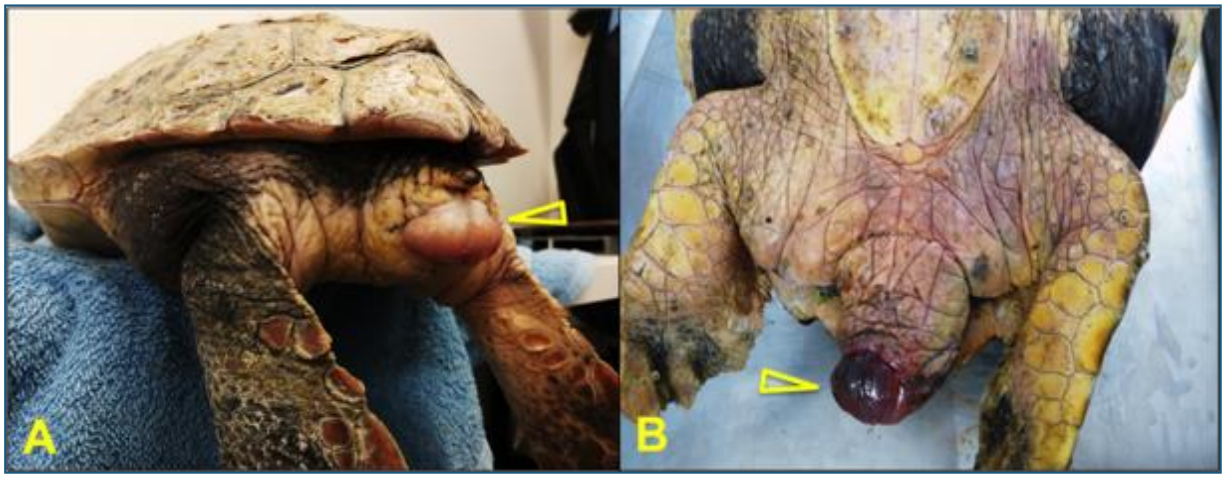


Figura 32: Presencia de edema y prolapso cloacal en ejemplares procedentes de pesca de arrastre. Este hallazgo es poco frecuente y podría estar asociado con el incremento de presión intracelómica durante el arrastre o durante el izado del copo y la descarga de la pesca en cubierta o bien con un déficit del retorno vascular como consecuencia del síndrome descompresivo.



Figura 33: Evidencia de espuma saliendo por narinas como consecuencia de la aspiración de agua de mar durante la inmersión y el edema pulmonar.

Además, y muy especialmente en animales que han permanecido muchas horas en inmersión forzada, se pueden signos de aspiración de agua de mar consistentes en la aparición de espuma en boca o narinas o incluso en eliminación de agua durante la respiración al poner al animal en un plano inclinado 45-60 grados durante la exploración. Esta circunstancia se da especialmente en trasmallo donde se observó en un 35,26% de los casos frente a solo un 1,84% de los animales ingresados por arrastre.

En base a nuestras observaciones a lo largo de estos años en Comunidad Valenciana, las tortugas procedentes de pesquerías mostraron cuatro tipos comportamientos diferentes en el momento de ser ascendidas a superficie o poco tiempo después:

1. Animales aparentemente normales, con respuesta al manejo y movimientos coordinados
2. Animales hiperactivos o hiperexcitados con diferente sintomatología neurológica. En este caso los pescadores describían que eran animales muy activos inicialmente, desplazándose

activamente por la cubierta, intentando morder, en ocasiones con movimientos de aletas descoordinados.

3. Animales en estado estuporoso/comatoso, donde se percibía una clara reducción del nivel de consciencia o respuesta a los estímulos.

4. Animales aparentemente muertos con ausencia total de respuesta a cualquier estimulo y parálisis flácida de cabeza y miembros.

Los animales con EG en sus diferentes grados, pueden aparecer de inicio en cualquiera de estas 4 formas ya que en muchos casos concurren otras patologías asociadas a la inmersión forzada, no encontrando tipologías puras de embolismo, hipoxia, aspiración o traumatismo, por ejemplo. Sin embargo, un signo bastante sugerente de la posibilidad de EG y DCS asociada (a diferencia con otras patologías asociadas a la inmersión forzada), es cuando el animal se recupera del aparejo normal o hiperactivo y a medida que pasa el tiempo en cubierta sufre un empeoramiento progresivo de su nivel de consciencia. El animal afectado en casos en caso de EG moderado o severo desarrolla sintomatología neurológica o evoluciona a comatoso/estuporoso llegando incluso a morir si no se aplica un tratamiento específico.



Figura 34: Ejemplar comatoso de tortuga boba procedente de trasmallo monitorizado con ECG y doppler monofásico para controlar el pulso arterial. En algunos casos es preciso recurrir a la ecocardiografía para poder evaluar la frecuencia y calidad del latido cardiaco.

En la mayoría de los casos, el síndrome de EG se superpone además con otros procesos asociados a la inmersión forzada incluyendo el ahogamiento con o sin aspiración de agua, la hipoxia, la acidosis, el desequilibrio de electrolitos, los traumatismos y la miopatía de captura y es por tanto muy complejo distinguir que componente sintomático corresponde a cada una de estas patologías. En condiciones normales, la hipoxia, el ahogamiento, los traumatismos o la acidosis no deberían conducir al agravamiento del cuadro clínico tras el mantenimiento del animal en cubierta, sino más bien lo contrario. Sin embargo, en el caso de la DCS este fenómeno de agravamiento del cuadro fundamentalmente neurológico sí puede suceder y muy especialmente en los casos graves de embolismo. En estos casos, observamos que los animales sin tratamiento hiperbárico terminaban muriendo a las 6-12h en casos graves y a las 72 horas en casos moderados. A lo largo de este periodo, de los 374 ingresados vivos, gracias al tratamiento han muerto sólo 18 animales en el CR de los cuales 14 tenían un grado de embolismo moderado o severo y de los otros 4 (3 con embolismo leve y un caso sin embolismo), todos procedían de trasmallo con aspiración abundante de agua de mar. Si nos ceñimos al arrastre donde los tiempos de calado son más cortos y los casos de descompresión más puros (generalmente sin aspiración ni ahogamiento), en todo este periodo hemos tenido 10 casos de EG moderado o severo que llegando vivos, no pudieron ser tratados en cámara hiperbárica o con oxigenoterapia prolongada porque acontecieron antes de que estuviese disponible o no se encontraba operativa, y 6 de estos casos murieron. A pesar de la pequeña muestra, esto supondría un 60% de mortalidad a pesar de la terapia de soporte y la oxigenoterapia puntual. El embolismo leve, si no concurre con otras patologías, en nuestra experiencia es generalmente asintomático y no suele presentar complicaciones aparentes al menos a corto plazo durante la recuperación.

En el examen clínico, las tortugas afectadas de EG pueden por tanto desde no mostrar ninguna sintomatología clínica o signo de la enfermedad (fundamentalmente en los casos leves), a desarrollar signos neurológicos graves. El examen neurológico (Chrisman et al., 1997) y su repetición en el tiempo, es por tanto de gran importancia en la posible detección de la enfermedad. Los hallazgos más frecuentes que se pueden observar al ingreso en animales afectados (varias horas tras la captura) pueden implicar una reducción del estado general de consciencia/actividad, extensión/retracción espástica del cuello (a veces lateralizando la cabeza) y apertura de la boca, la descoordinación en el movimiento de aletas, paresia de las extremidades (retraídas o no), dificultad respiratoria (también condicionada por la compresión pulmonar como consecuencia de la expansión de órganos y vísceras intracelómicos por el gas), pérdida de la sensibilidad superficial o nocicepción regional, reducción o

pérdida del reflejos (incluyendo el palpebral, retractor del cuello, retractor de las aletas o el cloacal) e incluso parálisis completa. La sintomatología puede ser un reflejo de la localización y la cantidad de burbujas de gas. Aunque la retracción de las aletas posteriores bajo el caparazón protegiéndose la zona de la cloaca se puede considerar un reflejo bastante frecuente en algunas especies de tortugas (p. ej: las tortugas verdes) ante situaciones de estrés (Harms et al., 2017), en nuestra experiencia no es tan común en las tortugas bobas y sí lo hemos podido ver frecuentemente como hallazgo asociado con casos de embolismo en estos animales.



Figura 35: Ejemplar con retracción espástica del cuello y retracción y plegamiento de las aletas posteriores bajo el plastrón.



Figura 36: Ejemplar con retracción de ambas aletas pectorales bajo el plastrón. Este hallazgo no lo hemos visto asociado a ninguna otra patología en tortugas marinas ni se describe como tal en la literatura publicada.

Según nuestras observaciones, la flotación positiva (con incapacidad para sumergirse) y la natación irregular se pueden dar durante algunas horas en caso de que los ejemplares afectados se devuelvan directamente al agua.

Aunque como hemos comentado anteriormente no existe sintomatología patognomónica de la enfermedad, sí que existen dos hallazgos clínicos que se podrían considerar intrínsecamente asociados a esta condición, aunque sólo son observables en algunos casos de descompresión severa. Por un lado, estaría la posible presencia de burbujas de gas en cámara anterior del ojo que en nuestro caso lo hemos podido evidenciar en sólo 4 de los 435 ejemplares estudiados y todos ellos casos severos que llegaron muertos o murieron a las pocas horas de la llegada. No es descartable que se puedan dar burbujas en cámara anterior en casos más leves, pero no serían fácilmente evidenciables en el animal vivo.



Figura 37: Presencia de burbujas de gas intraoculares (en cámara anterior) en un ejemplar con EG severo que ingresó ya muerto en el CR. Este tipo de exploración ocular no se puede realizar en el animal vivo y consciente, pero sí es viable en casos muertos o comatosos.

Por otro lado, en algunos casos de embolismo grave o moderado, se puede dar la circunstancia de extraer sangre con burbujas o incluso sólo aire al hacer la punción en el seno cervical dorsal durante la extracción de sangre a la admisión al CR. Este hallazgo puede llegar a ser más frecuente, cerca del 50% en los casos de embolismo severo que suelen ingresar ya comatosos en el CR transcurridas varias horas tras su captura, detectándose alguna burbuja ocasional en las extracciones de sangre de los casos moderados. Si la punción es correcta y el sellado con la piel es adecuado, es un hallazgo que consideramos altamente sugerente de la enfermedad para animales que procedan de pesca accidental. La acumulación de gas en el seno cervical dorsal suele evidenciarse al cabo de las horas de haber hecho superficie.



Figura 38: Ejemplares de tortuga con EG severo al ingreso durante la extracción de sangre del seno cervical dorsal. Nótese la abundante presencia de burbujas que salen mezcladas con la sangre tanto en el cuerpo de la jeringa como en el extensor de la palomilla. En algunas ocasiones puede llegar a salir únicamente gas con algunos restos de sangre (derecha).

A.2- DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

Como hemos visto, la DCS es una entidad clínica cuyo diagnostico se basa en la sintomatología observable en la exploración y los resultados de las pruebas diagnósticas complementarias, asociados a la historia clínica del animal como por ejemplo el tipo de arte de pesca, la duración de calado del aparejo, la velocidad de ascenso, el estado inicial tras la captura y la evolución a lo largo del tiempo.

Como veremos a continuación y ya describimos en los trabajos previos publicados sobre el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, la combinación de las técnicas de radiología y ecografía son el recurso más fácil, más rápido, y más completo para alcanzar un diagnóstico inicial de EG y presuntivo de DCS en tortugas marinas (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017). Dado que en muchos casos ambas unidades no son fácilmente asequibles para muchos grupos de investigación o centros de rehabilitación, es aconsejable proveer al menos con una máquina de Rayos X a aquellas instalaciones que hagan rehabilitación en tierra y con un ecógrafo portátil si se hace trabajo de campo que incluya el diagnóstico a bordo para tratar de diagnosticar EG.

La categorización de los animales vivos positivos a EG, así como en los animales recientemente muertos la establecimos desde un principio fundamentalmente en base a la cantidad y distribución de

gas detectado principalmente mediante técnicas de diagnóstico por imagen convencionales (ecografía y radiología simple) (García-Párraga et al., 2014). Cabe destacar que esta categorización se estableció originalmente en 2014 en base a los animales que llegaban a nuestro CR varias horas tras la captura y se mantuvo a lo largo de todo el estudio realizado con los casos atendidos en el CR del Arca del Oceanográfic. Sin embargo, como veremos, esta clasificación podría no ser directamente extrapolable a los estudios que realizamos posteriormente y que presentaremos en el Capítulo 3 de esta Tesis Doctoral. Los estudios más recientes evalúan a los animales en las fases más tempranas de la enfermedad a bordo de buques pesqueros. La formación, extensión y distribución del gas puede verse afectada especialmente durante las primeras dos horas de tiempo en superficie pudiendo dar lugar a una mayor cantidad de burbujas circulantes inicialmente que tenderían a coalescer y salir de circulación, quedando depositadas o retenidas en determinadas regiones del animal al cabo de las horas.

En base a los estudios de imagen decidimos categorizar a los ingresos en el CR de acuerdo con 3 niveles de severidad (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2017):

4. Embolia leve: cuando sólo se detectó una pequeña cantidad de gas en la región del riñón mediante ecografía y la proyección radiográfica LL. En los animales afectados en este grado generalmente el gas no llega a ser detectable en proyección DV. Ecográficamente tampoco es detectable en otras regiones, aunque esporádicamente se puede detectar alguna burbuja en circulación cardiaca. En TC el gas se observa fundamentalmente acumulado en la región renal, aunque puede aparecer ocasionalmente algún vaso hepático afectado especialmente en la región más dorsal del órgano (cerca del pulmón). Asimismo, algunos casos leves en tomografía también pueden mostrar gas en el canal vertebral. A lo largo de todo el estudio se identificaron 107 casos dentro de esta categoría lo que supuso un 24,6% de todos los ingresos.

5. Embolia moderada: cuando se detectó un mayor volumen de gas en la región del riñón, siendo éste muy evidente tanto en ecografía como en radiografía LL, pero también patente en proyección DV. En esta última proyección también se evidenció el EG (mediante la presencia de angiogramas) en otros vasos de menor calibre ubicados en la periferia del celoma o del hígado y una restricción en la extensión y contraste del campo pulmonar. Mediante ecografía, también se observaron algunas burbujas de gas libre en el lumen de los grandes vasos, en el parénquima y vasculatura renal y en las cámaras cardiacas (muy especialmente en el atrio derecho). El parénquima hepático también puede mostrar imágenes hiperecogénicas

compatibles con la presencia de burbujas. En la tomografía se puede detectar la presencia de gas de forma evidente tanto a nivel renal como hepático, así como en múltiples vasos sanguíneos de mayor y menor calibre. El gas suele ser también evidente en SNC y en algunos casos en la grasa pericelómica. En el periodo de estudio se incluyeron 94 casos en esta categoría, equivalente a un 21,6% de todos los animales provenientes de pesquerías.

6. Embolia severa: la presencia de gas fue evidente en radiografías DV a nivel del riñón, el hígado, los grandes vasos sistémicos, e incluso en las propias cámaras cardiacas. Las imágenes ecográficas renales y cardiacas generalmente se vieron impedidas por la enorme cantidad de gas infiltrado en los tejidos que generó un gran artefacto dificultando la penetración de los ultrasonidos. Cuando se pudo conseguir una buena ventana ecográfica, se observaron abundantes burbujas de gas en el torrente sanguíneo y acumulaciones de gas presentes en la mayoría de las cámaras cardiacas y grandes vasos. Los campos pulmonares generalmente casi desaparecieron en proyección DV debido al colapso pulmonar como consecuencia de la expansión del hígado y los grandes vasos por el gas. En tomografía la presencia de gas es visible en la mayoría de los vasos sanguíneos de gran calibre del animal, en cámaras cardiacas, y disperso por múltiples órganos y tejidos incluyendo riñones, hígado, grasa pericelómica, SNC e incluso en el interior de los globos oculares. En el periodo de estudio se categorizaron como severos 49 casos, un 11,3% del total de ingresos.

Examen radiográfico

La radiografía simple es la herramienta de diagnóstico semicuantitativa más sencilla y de hecho la más práctica para clasificar la gravedad del embolismo en cuanto a la cantidad de gas y su distribución orgánica. Asimismo, esta técnica nos va a permitir la detección de aspiración de agua de mar a nivel pulmonar, aspecto que como veremos es decisivo tanto para el tratamiento adecuado como desde el punto de vista del pronóstico (**Figura 39**). En el examen radiográfico, al menos se recomienda tomar las proyecciones dorso-ventrales (DV) y latero-lateral (LL) para permitir al veterinario tener una visión general de la cantidad de gas en los casos positivos. Si es posible, la proyección cráneo-caudal (CC) también se debe obtener para valorar adecuadamente el campo pulmonar. El gas intravascular se observa como radiolúcido (contraste negativo) llegando a distender el corazón y los grandes vasos (**Figura 40**). La radiografía simple de todo el cuerpo en proyección DV

generalmente proporciona información suficiente para clasificar el grado de embolización en leve, moderada y severa en cada caso dependiendo de la cantidad y distribución de gas.



Figura 39: Obtención de una placa radiográfica en proyección DV de un ejemplar de tortuga marina. El animal está ubicado sobre un portachasis sobre el suelo que contiene el chasis radiográfico en su interior. Encima del animal (parte superior de la foto) se encuentra el tubo de rayos. Al fondo se encuentra el equipo de digitalización (digitalizador indirecto).

En casos severos, el campo pulmonar tanto en proyección DV, CC como LL está significativamente reducido de tamaño y más radiopaco (con menos aire) como consecuencia del colapso pulmonar que induce la expansión del lecho vascular y otros órganos y tejidos como el hígado (**Figura 40**). Las venas ilíacas externas y porta renales se contrastan también por el gas acumulado en los individuos con afectación moderada y grave, y en estos casos, el embolismo es perceptible en proyección radiográfica dorso-ventral. En los casos de embolismo moderado, el gas también puede ser detectable

radiográficamente en los vasos margino-costales de la tortuga y dentro de los vasos hepáticos normalmente en su región más periférica. En los casos más graves, la presencia del EG es más generalizada siendo evidente en prácticamente todos los grandes vasos y sus aferentes incluyendo las precavas, la postcava y las grandes venas hepáticas, así como en las cámaras cardíacas (seno venoso y los atrios derecho e izquierdo).

Un aspecto relevante y que será objeto de estudio a futuro, es que la distribución del gas patológico que aparece tras la descompresión en casos moderados y severos podría ser diferente en los casos procedentes de trasmallo con respecto a los casos de arrastre. Mientras que en el trasmallo parece haber por regla general menos cantidad de gas y este estar distribuido definiendo vasos más periféricos y de menor calibre fundamentalmente, en los casos de arrastre el gas parece generar un macroembolismo concentrándose más en vasos de mayor calibre asociados a los riñones, las venas hepáticas, la postcava y las cámaras cardiacas; no definiéndose con tanto detalle en las regiones más marginales de la tortuga. Esto podría deberse a la circunstancia de que, en el caso del arrastre, la tortuga se somete a una tipología de pesca dinámica (lo que podría implicar una mayor estimulación del animal y un mayor incremento del gasto cardiaco) asociada a una mayor profundidad y por tanto mayor velocidad de difusión del nitrógeno contenido en los pulmones, aunque en tiempos de calado más cortos. Así el nitrógeno se disolvería más rápidamente en sangre y los tejidos más rápidos sin que está llegase a equilibrarse con otros tejidos y llevando a una descompresión más explosiva a partir del torrente circulatorio al salir a superficie. Sin embargo, en el caso del trasmallo, el arte por regla general permanece calado muchas más horas (más de 12 horas en muchos casos), a menor profundidad, y es un arte estático (el animal probablemente sufriese una menor estimulación física comparado con el arrastre). Esto podría implicar que la absorción del nitrógeno en el caso del trasmallo fuera más lenta o gradual que en el arrastre y que los tejidos pudiesen alcanzar un cierto nivel de disolución del nitrógeno mucho menor y prácticamente en equilibrio con el compartimento vascular. Así tras la descompresión, la formación de burbujas podría no ser tan explosiva y a expensas de solo el compartimento vascular, permitiendo una formación de burbujas de nitrógeno desde los tejidos más lentos sobresaturados (como la grasa pericelómica que tendría mayor avidez por el nitrógeno (Lonati et al., 2015; Papadopoulou et al., 2015)), y definiendo más los vasos periféricos y no tanto los grandes vasos intracelómicos. A pesar de esta observación preliminar, esta observación en referencia a las diferencias observadas en los patrones de descompresión en base a las pesquerías está siendo objeto de estudio más en profundidad y de ser confirmada se espera poder publicar en una etapa posterior.

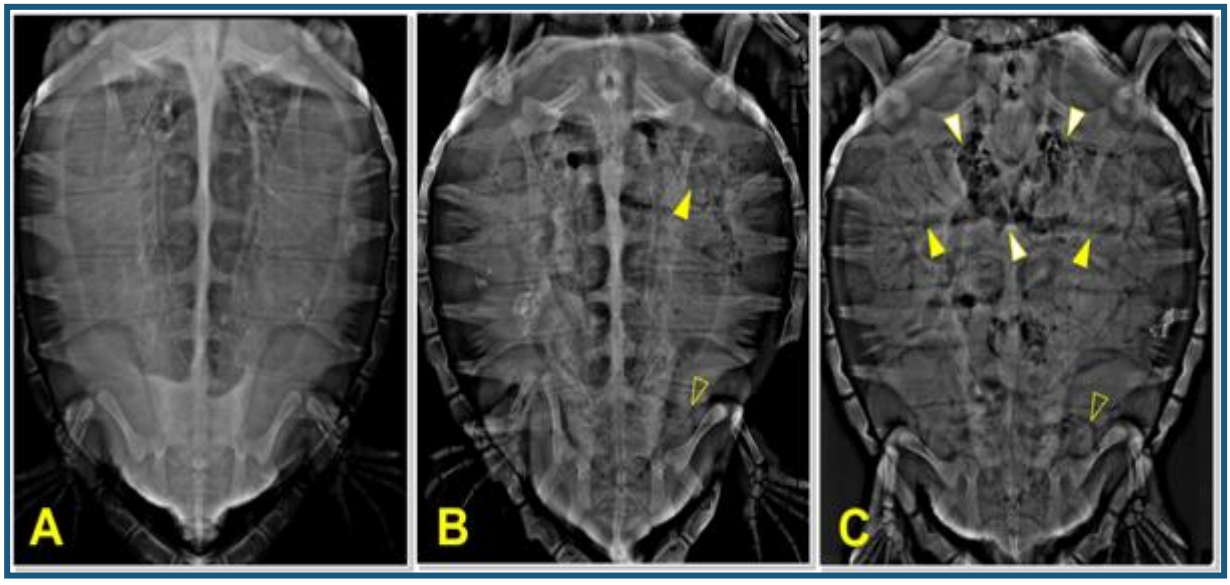


Figura 40: Imágenes radiográficas de 3 ejemplares de tortuga marina en el momento del ingreso. A Tortuga sana sin signos aparentes de enfermedad. Nótese la diferencia de contraste y expansión del campo pulmonar. B Tortuga afectada por EG moderado. Aparecen ya angiogramas definidos en las venas iliacas externas y sistema porta renal (flecha hueca) y zonas con angiogramas en región hepática (flecha amarilla). Nótese la reducción en la extensión y el contraste del campo pulmonar. C Ejemplar con EG severo. Se siguen marcando las venas porta renales, pero además se observa el corazón completamente distendido por el gas (flechas blancas) y las venas hepáticas muy dilatadas y completamente llenas de gas (flechas amarillas). El campo pulmonar ya no es visible en la placa debido al colapso. Este ejemplar ingresó muerto. Fuente: Imagen adaptada de (García-Párraga et al., 2014).

En ausencia de un ecógrafo, para descartar la condición mediante exámenes radiográficos en los casos leves, la proyección LL de la región renal es la que ofrece una mayor sensibilidad a la presencia de gas dentro de los vasos renales, siendo evidentes incluso los casos muy leves que se perderían si sólo se disparase en DV.

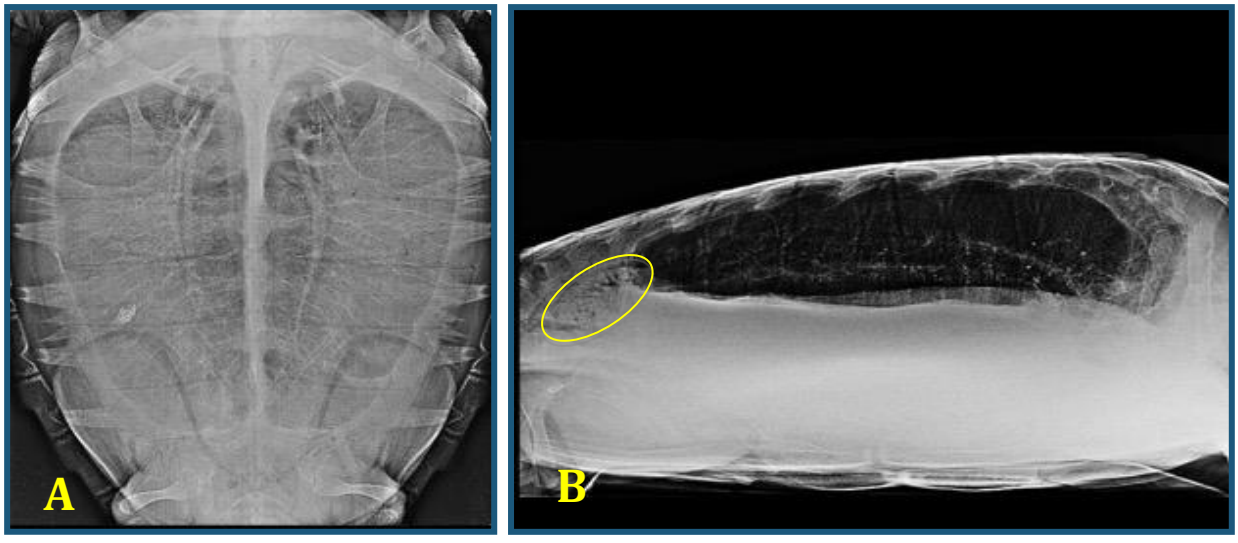


Figura 41: Proyecciones radiográficas estándar de un animal con embolismo leve. A Proyección DV. Nótese la ausencia de angiogramas evidentes y la normal extensión del campo pulmonar. B Proyección LL. Nótese la presencia de gas en la vasculatura renal (óvalo) que no era apenas evidenciable en proyección DV.

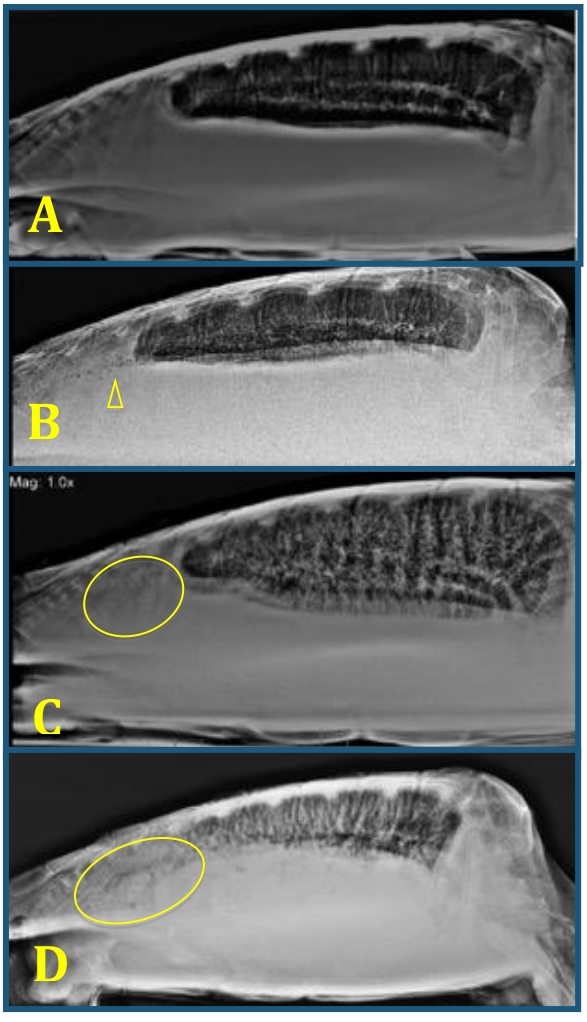


Figura 42: Imágenes radiográfica LL de 4 tortugas con diferente grado de embolismo. A tortuga sana. No se aprecia la presencia de gas en el área de proyección renal (región posterior al pulmón). B caso leve mostrando únicamente una ligera cantidad de gas en la vasculatura renal que se aprecia justo por detrás de la silueta pulmonar (flecha). C Caso de embolismo moderado mostrando más zonas radiolúcidas en la zona posterior al pulmón. Nótese también la presencia de edema pulmonar como consecuencia de la aspiración de agua. D Caso de embolismo severo. Se observa una amplia región retropulmonar donde se puede evidenciar la presencia de gas y una importante restricción en el área de expansión pulmonar. Ventral al pulmón también se observan angiogramas en la zona de proyección hepática.

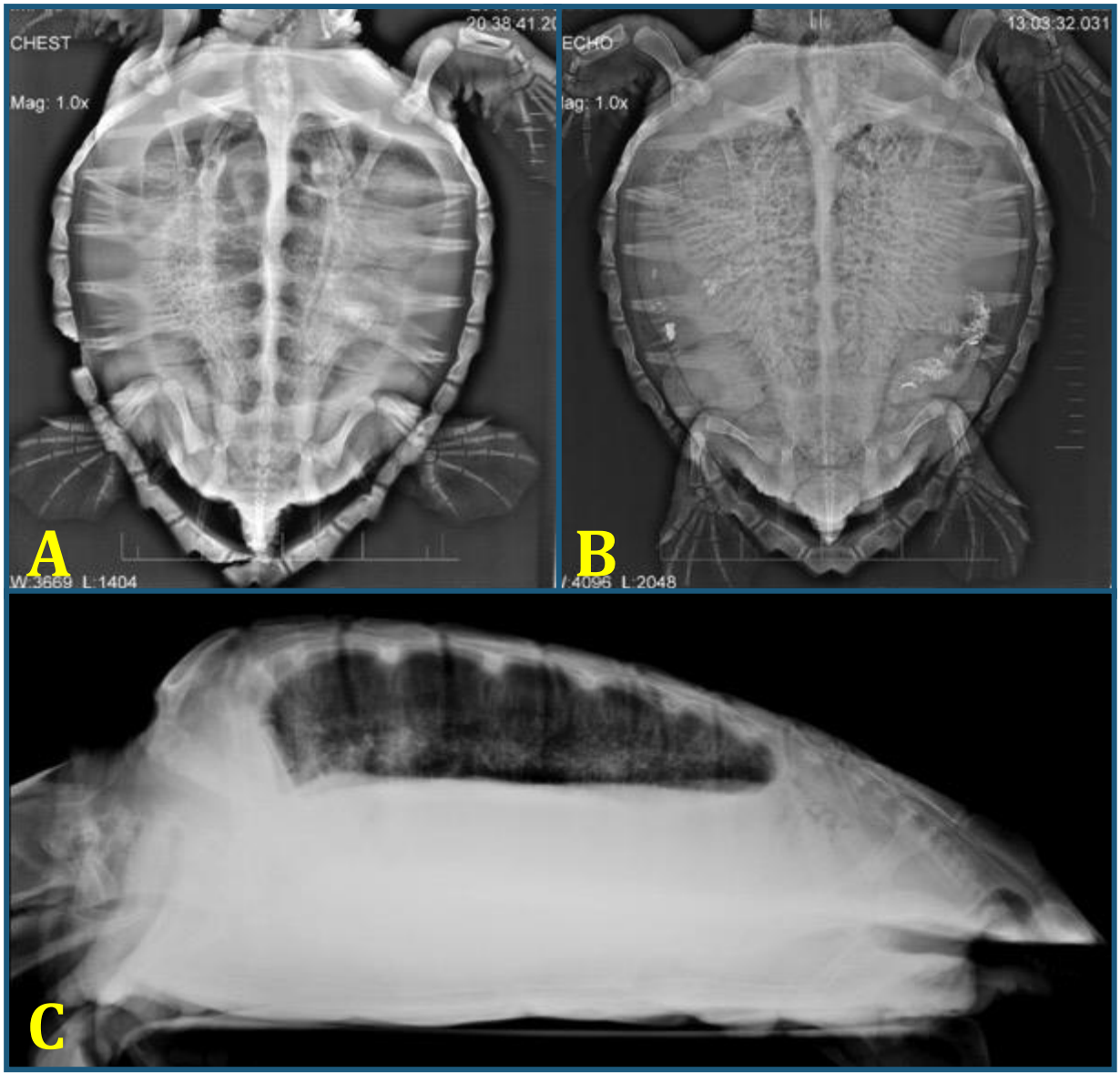


Figura 43: Radiografías de 3 ejemplares con signos compatibles con aspiración de agua de mar. A Radiografía DV de un ejemplar con aspiración leve. Nótese la imagen típica en panal de abeja que se asocia al edema pulmonar en una región del pulmón izquierdo. B Radiografía DV de un ejemplar con aspiración y encharcamiento masivo de agua de mar afectando a ambos pulmones en toda su extensión. Además, se observan signos de EG moderado en región renal, venas marginales-costales y la vasculatura periférica de las extremidades. C Radiografía LL de un ejemplar con aspiración leve que se evidencia como zonas más radiopacas (blancas) dentro del campo pulmonar. Este ejemplar también presenta un embolismo leve perceptible por la presencia de gas (zonas radiolúcidas) en el área de proyección renal (justo caudal a donde finaliza la silueta pulmonar).

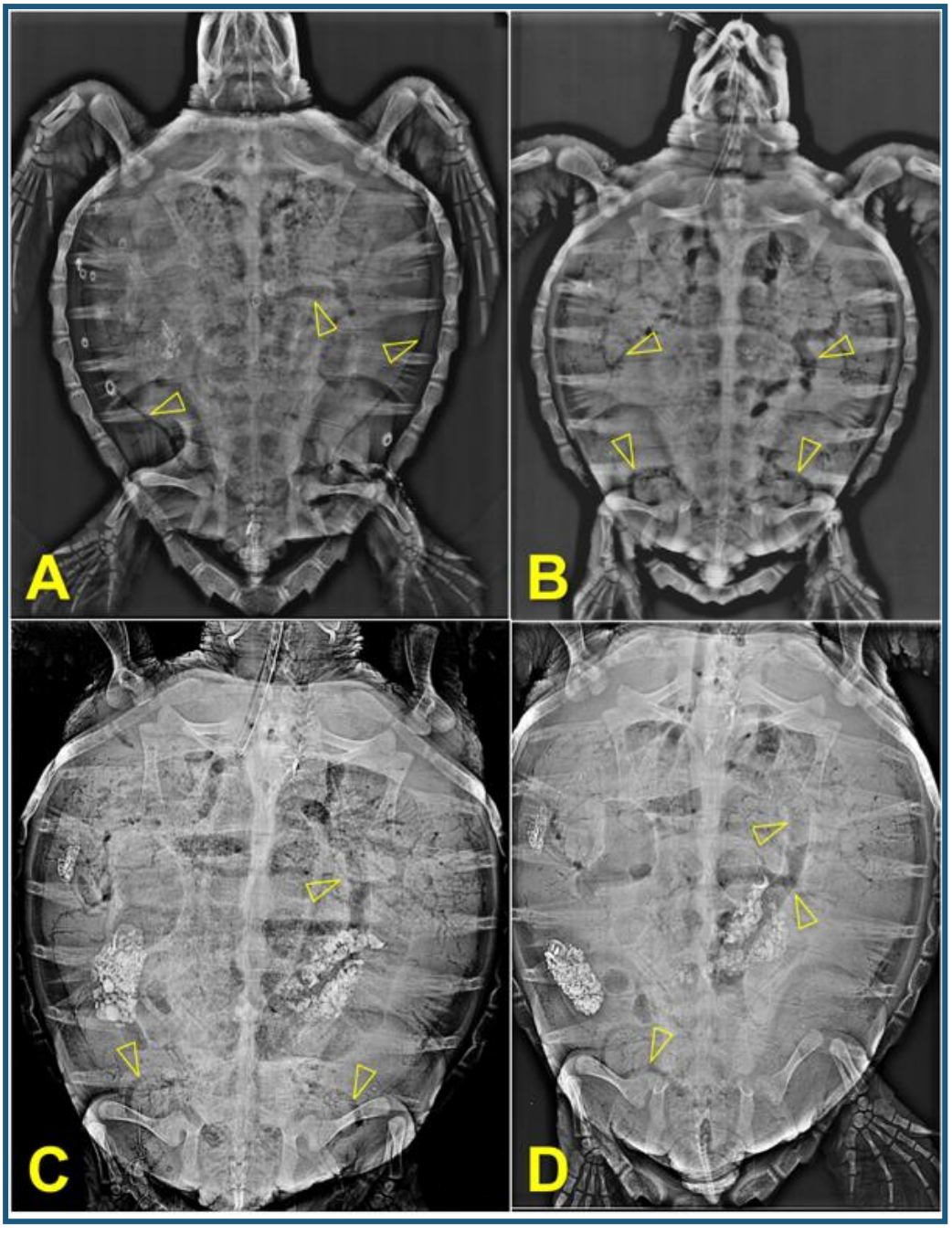


Figura 44: Radiografías DV de 4 ejemplares de tortuga marina con EG severo. Nótese la falta de contraste del campo pulmonar en todas ellas. A ejemplar donde se puede apreciar la distensión por el gas de las venas hepáticas y venas marginales-costales (flechas). B Ejemplar donde se evidencia la presencia de abundante cantidad de gas en venas hepáticas, venas iliacas externas y sistema porta renal (flechas) entre otras. Ejemplar intubado. C Distensión por el gas de las venas iliacas externas, porta renales y la postcava (flechas) así como de las venas hepáticas hasta las regiones mas marginales del hígado. En este ejemplar la silueta pulmonar llega a ser algo más patente. Ejemplar intubado. D distensión por el gas de la vena iliaca izquierda y la postcava (flechas) así como de las venas hepáticas.

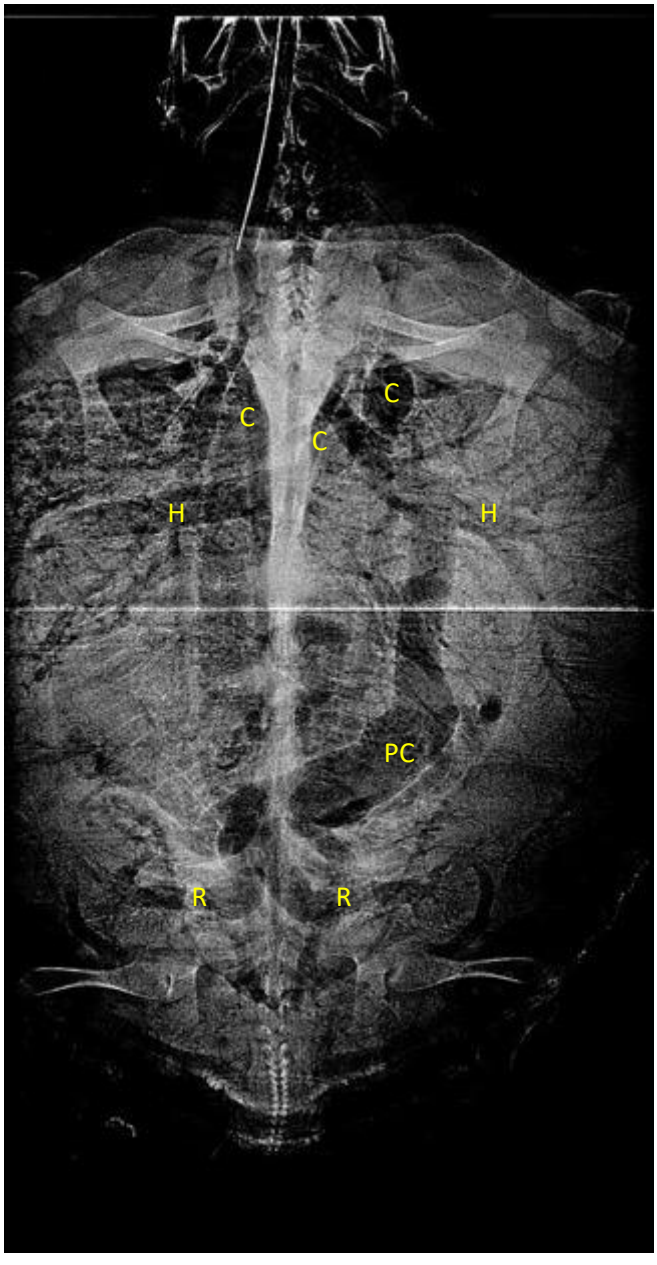


Figura 45: Radiografía de un ejemplar con EG masivo. Nótese la enorme distensión de la postcava (PC), las venas renales (R), las venas hepáticas (H) y las cámaras cardiacas (C). Los vasos hepáticos son visibles prácticamente en toda el área de proyección del hígado. El animal está intubado.



Figura 46: Radiografías DV y CC de un ejemplar con EG severo. Nótese la perdida de definición del campo pulmonar tanto en la proyección DV como en la CC. Aunque menos informativa que las proyecciones DV y la LL, la proyección cráneo caudal (CC) también puede dar información sobre el grado de expansión pulmonar y la presencia de focos neumónicos donde se evidencie la aspiración de agua.

Señalar que, en nuestra experiencia, en caso de que los animales lleguen con una cantidad importante de cirrípedos adheridos al caparazón, es preferible eliminarlos con ayuda de una espátula u objeto atraumático antes de la realización de cualquier estudio radiológico o tomográfico, con el fin de eliminar posibles interferencias en el diagnóstico.

Las radiografías de los especímenes muertos también resultan ser muy útiles para facilitar la interpretación de los hallazgos de gas intravascular y las lesiones previas a la necropsia y así interpretar mejor su significatividad.

Examen ecográfico

La ecografía es el método más sensible para determinar la presencia de burbujas de gas incluso en casos muy leves ya que el gas es muy ecogénico al generar un cambio de fase con respecto a los tejidos. Incluso acumulaciones muy pequeñas de gas pueden verse como manchas hiperecoicas generando sombras acústicas o artefactos típicos en cola de cometa (**Figura 50**; **Figura 51**; **Figura 53**; **Figura 54**).

Las principales ventanas acústicas que proponemos como más útiles en tortugas para la evaluación de los diferentes órganos que se suelen afectar por el EG en la exploración ecográfica en base a los accesos estándar establecidos por Valente *et al.* (2007) serían:

- Fosas prefemorales derecha e izquierda: para la exploración de los riñones y celoma caudal.
- Ventana cervical ventral: para la exploración del corazón
- Ventanas cérvico-braquiales derecha e izquierda: para la exploración del corazón y parte del hígado
- Ventanas axilares (fundamentalmente la derecha): para la exploración del hígado.

En nuestra experiencia en base a los animales recibidos en el CR, estas acumulaciones de burbujas de gas suelen darse principalmente en los casos leves, a nivel del riñón. Además, la ecocardiografía en casos leves a moderados por lo general puede revelar diferentes cantidades de burbujas de gas libre en movimiento dentro de las diferentes cámaras cardíacas y los grandes vasos (y muy especialmente en el atrio derecho) tal y como se describe en medicina humana (Francis and Mitchell, 2003; Francis and Simon, 2003; Gawthrope et al., 2015; Germonpre et al., 1998; Vann et al., 2011). La acumulación de gas se ve a través de la ecografía en casos moderados en los riñones y vasos asociados, atrios derecho e izquierdo y en el hígado. Sin embargo, un examen ecográfico es inviable en los casos severos, debido a la masiva presencia de gas que llega a salir de la disolución impidiendo la penetración de los ultrasonidos a través de la mayoría de las regiones del cuerpo y los tejidos. En casos severos cuando se consigue una buena ventana a través del espacio inguinal que no esté impedida por el gas, se puede llegar a detectar la presencia de líquido libre (trasudado) en el interior de la cavidad celómica. Este acumulo de líquido se corresponde con la presencia de plasma extravasado en el espacio celómico como consecuencia del fallo circulatorio y como veremos más adelante se puede asociar a elevaciones en el hematocrito y la hemoglobina.

Sin embargo, y a pesar de su sensibilidad, la ecografía es bastante menos eficaz en comparación con la radiografía para cuantificar el volumen total de gas patológico y su distribución a lo largo de toda la anatomía del animal.

Es destacable que cuando establecemos los patrones de gravedad y decimos que el gas tiende a acumularse en los riñones y siendo sólo únicamente detectable en esta región en los casos leves, nos referimos a este hecho cuando examinamos a los animales a la llegada al CR, varias horas después de su captura. Sin embargo, en los estudios ecográficos que hemos ido realizando a bordo de buques pesqueros inmediatamente después de salir a superficie, las burbujas circulantes eran visibles prácticamente en todas las regiones corporales explorables, siendo en algunos casos explorables más evidentes en cámaras cardiacas que en circulación renal. Podría parecer, por tanto, que la circulación renal (y muy especialmente el sistema porta renal), al igual que los capilares pulmonares, podrían retener las burbujas generadas con más facilidad sacándolas de circulación. Este hecho podría justificar que en estadios iniciales durante la fase de gas-off o de salida del nitrógeno de solución, haya más burbujas circulantes y menos en parénquima renal, mientras que, pasadas unas horas, la mayoría de las burbujas hayan quedado retenidas en vasos y/o el parénquima renal o se hayan eliminado con la respiración quedando ya muchas menos en circulación. En nuestra experiencia sólo en los casos más graves se llegan a observar aun abundantes burbujas circulantes en riñones, hígado y cámaras cardiacas trascurridas varias horas. En nuestra experiencia los riñones son además la última región de donde desaparece el gas intravascular durante la fase de eliminación.

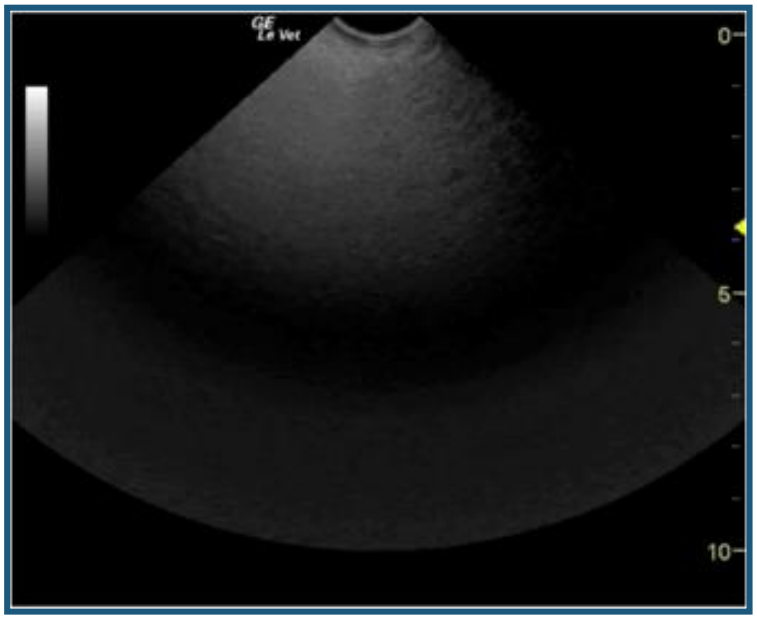


Figura 47: Imagen ecográfica a través de la fosa prefemoral izquierda para la evaluación del riñón en un ejemplar de tortuga boba con embolismo severo. Nótese la falta de resolución por la incapacidad de penetración de los ultrasonidos ante la abundante presencia de gas.

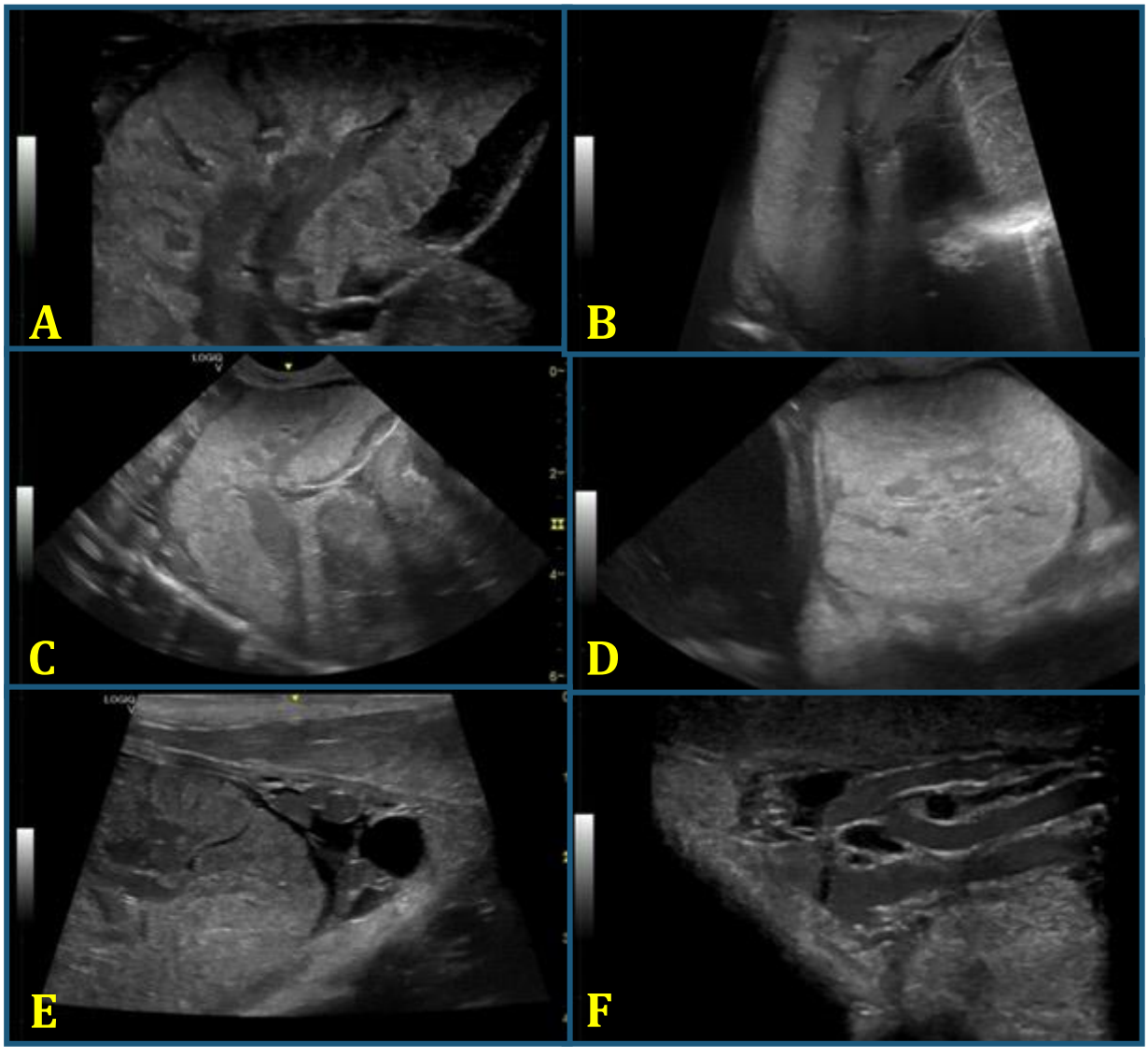


Figura 48: Imágenes ecográficas de riñones sanos de tortugas marinas donde se puede observar la arquitectura normal del parénquima y los vasos renales y perirrenales. La sangre en el interior de los vasos, aunque hipoecogénica con respecto al parénquima, es de forma normal más ecogénica que en el caso de los mamíferos o las aves. Esto es un hallazgo normal en tortugas marinas. Imágenes A y B sección longitudinal de un lóbulo renal con sonda lineal de alta resolución. En la parte derecha de la imagen B se observa imagen compatible con la presencia de gas porque se produce cierto solapamiento con el pulmón adyacente al riñón. C y D Secciones longitudinal y transversal con sonda microconvex. Nótese que con estos presets el parénquima se ve más realzado, pero es un hallazgo normal. E y F Vasos perirrenales en sección transversal y longitudinal con sonda lineal de alta resolución.

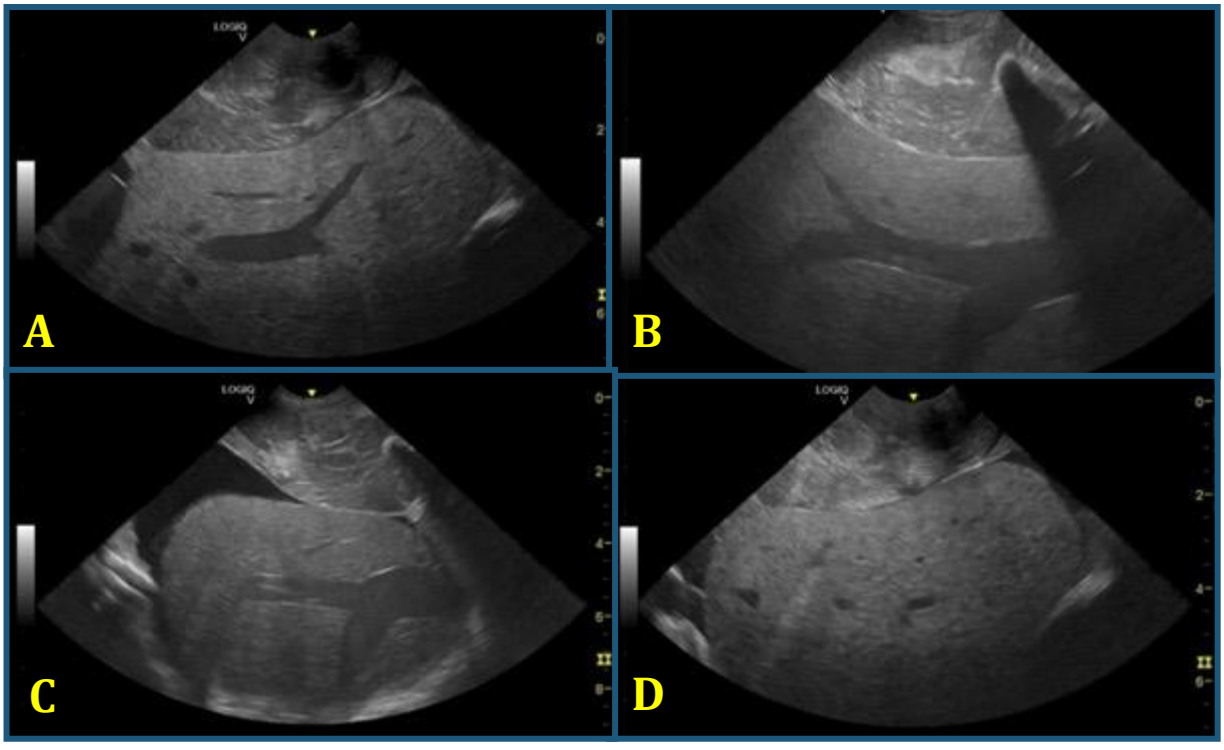


Figura 49: Imágenes ecográficas de hígados sanos de tortugas marinas donde se puede observar la arquitectura normal del parénquima y las venas hepáticas. En C se observa cierta cantidad de líquido libre en cavidad celómica (negro).

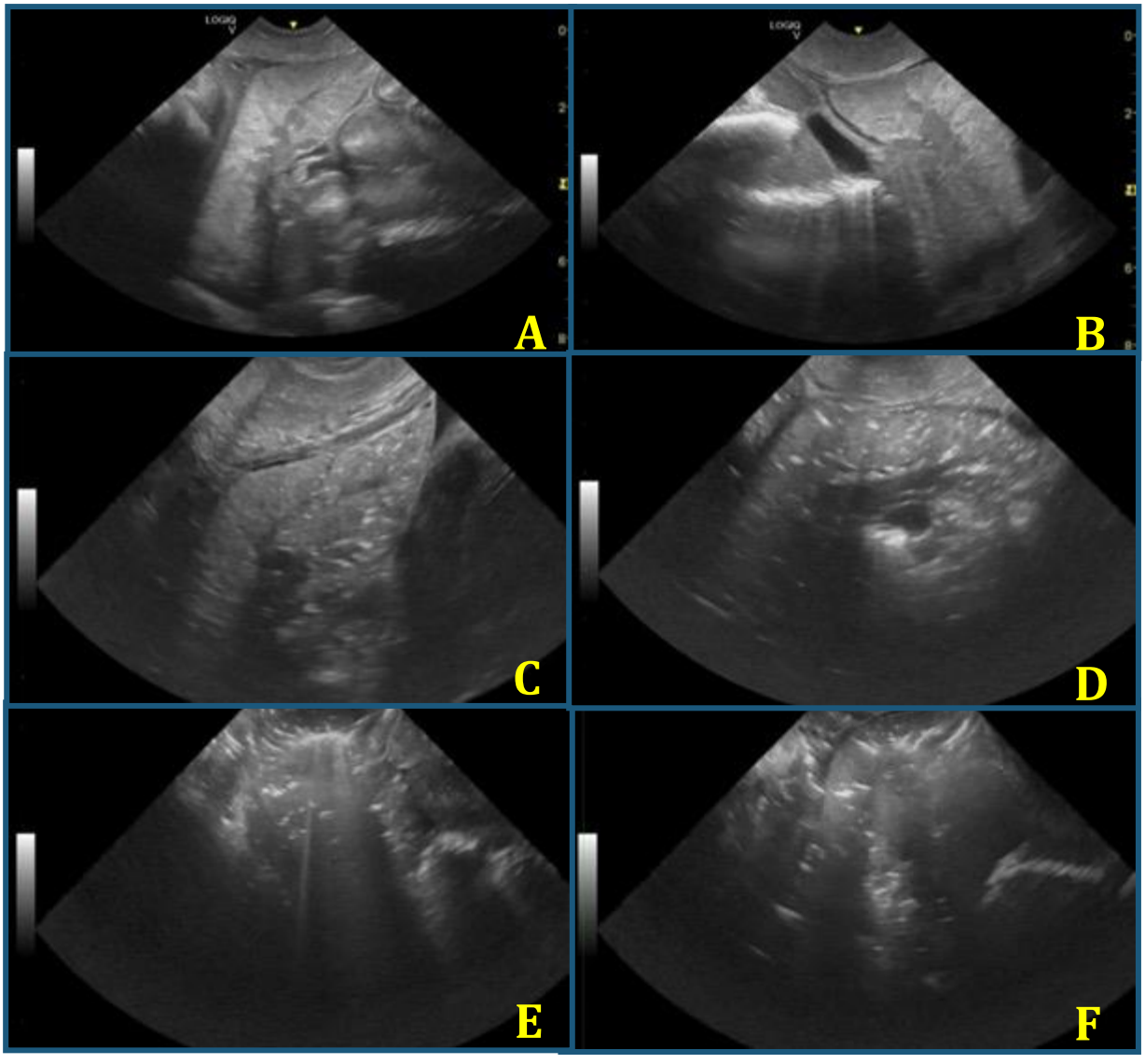


Figura 50: Imágenes renales obtenidas de tortugas con diferente grado de embolismo con sonda microconvex a través de la fosa prefemoral. A y B Animales sin EG. Las zonas hiperecogénicas se corresponden con presencia de gas intestinal en sección transversal (A) o longitudinal (B). C y D presencia de embolismo leve detectable como pequeños puntos hiperecogénicos en el parénquima renal y en algunos vasos renales (D). E y F. Embolismo moderado. La presencia de gas en el parénquima es ya bastante evidente generando artefactos e impidiendo la penetración de los ecos en mayor profundidad.

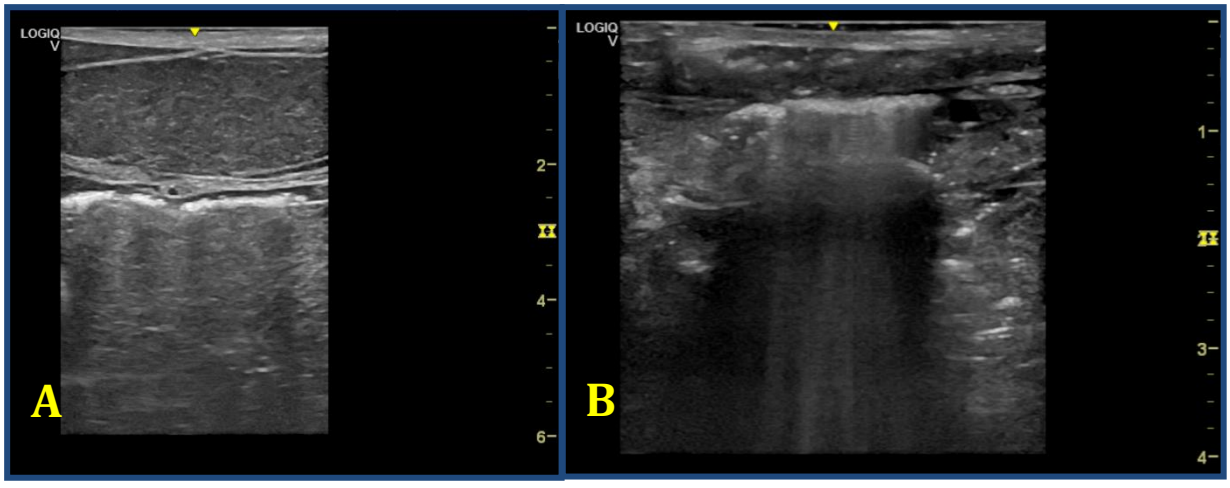


Figura 51: Imagen de alta resolución mostrando burbujas de gas (hiperecogénicas, blancas) en la luz de los vasos perirrenales. En la imagen A no se percibe tanto el artefacto, pero se definen muy bien las burbujas en la luz del vaso. En B es patente la imagen en cola de cometa que dejan las burbujas en el campo profundo.

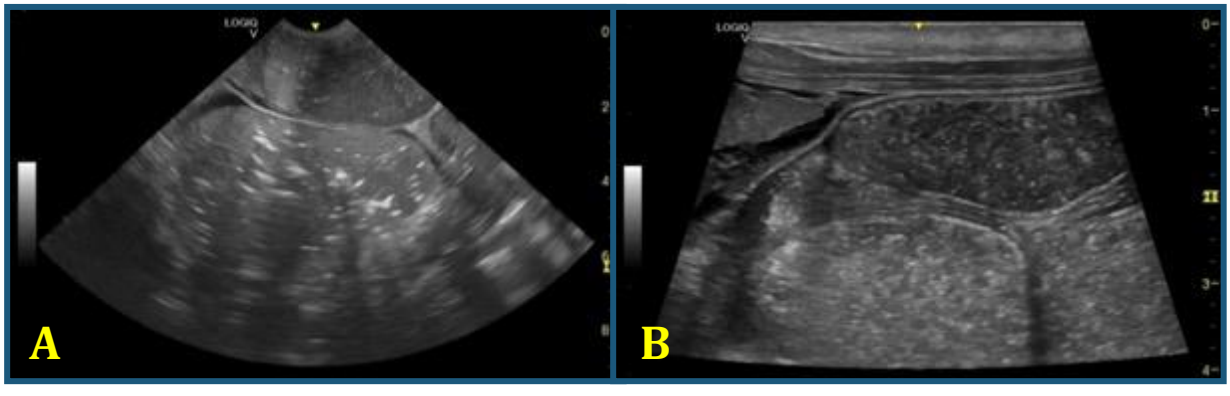


Figura 52: A Ecografía hepática mostrando signos de EG con acúmulo de gas en el parénquima. Imagen procedente de un animal con un grado moderado de EG. B Asas intestinales con contenido alimenticio/fecal en su interior. Es importante no confundir el gas digestivo o pulmonar que por proximidad anatómica pueden localizarse cerca de la región renal o hepática con gas patológico procedente de un evento descompresivo.

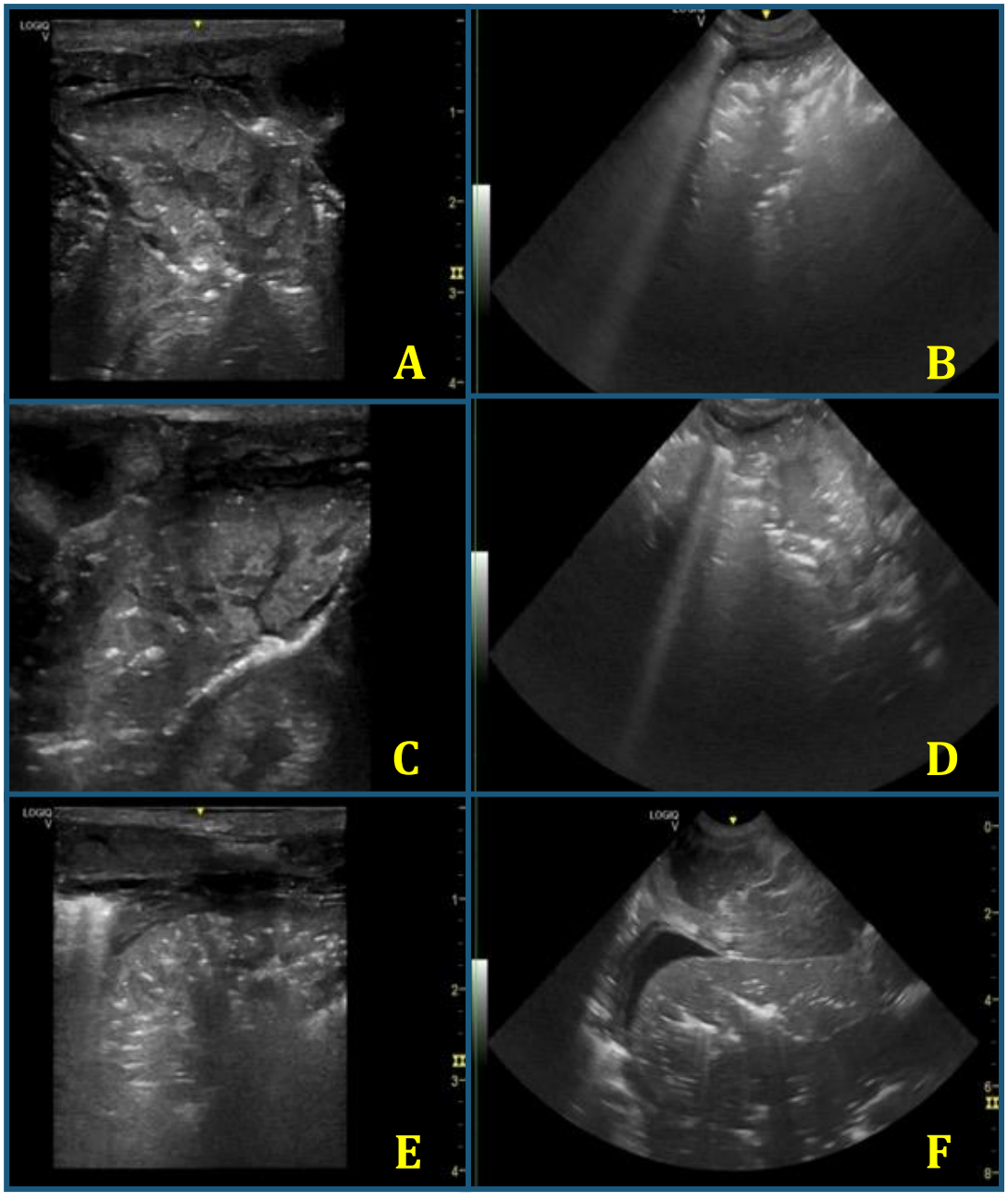


Figura 53: Imágenes ecográficas de un mismo ejemplar de tortuga boba con embolismo moderado. En las imágenes A, C y B se observan distintos cortes del parénquima renal a través de la fosa prefemoral con la sonda lineal de mayor resolución (12MHz). Las zonas hiperecogénicas se corresponden a puntos con mayor acumulo de burbujas. Las imágenes B, D y F están obtenidas con la sonda microconvex de 8MHz la cual ofrece menor resolución, pero mayor penetración en el tejido (mayor profundidad). Las imágenes B y D dejan ver el parénquima renal con abundante gas acumulado (blanco) así como algunos artefactos en cola de cometa por el gas contenido en algunos de los vasos perirrenales. La imagen F se corresponde a una sección del parénquima hepático a través de la ventana axilar derecha. La vasculatura hepática también muestra la presencia de abundante cantidad de gas (hiperecogénico). Nótese también la presencia de un aumento del líquido libre (negro) en el espacio celómico.

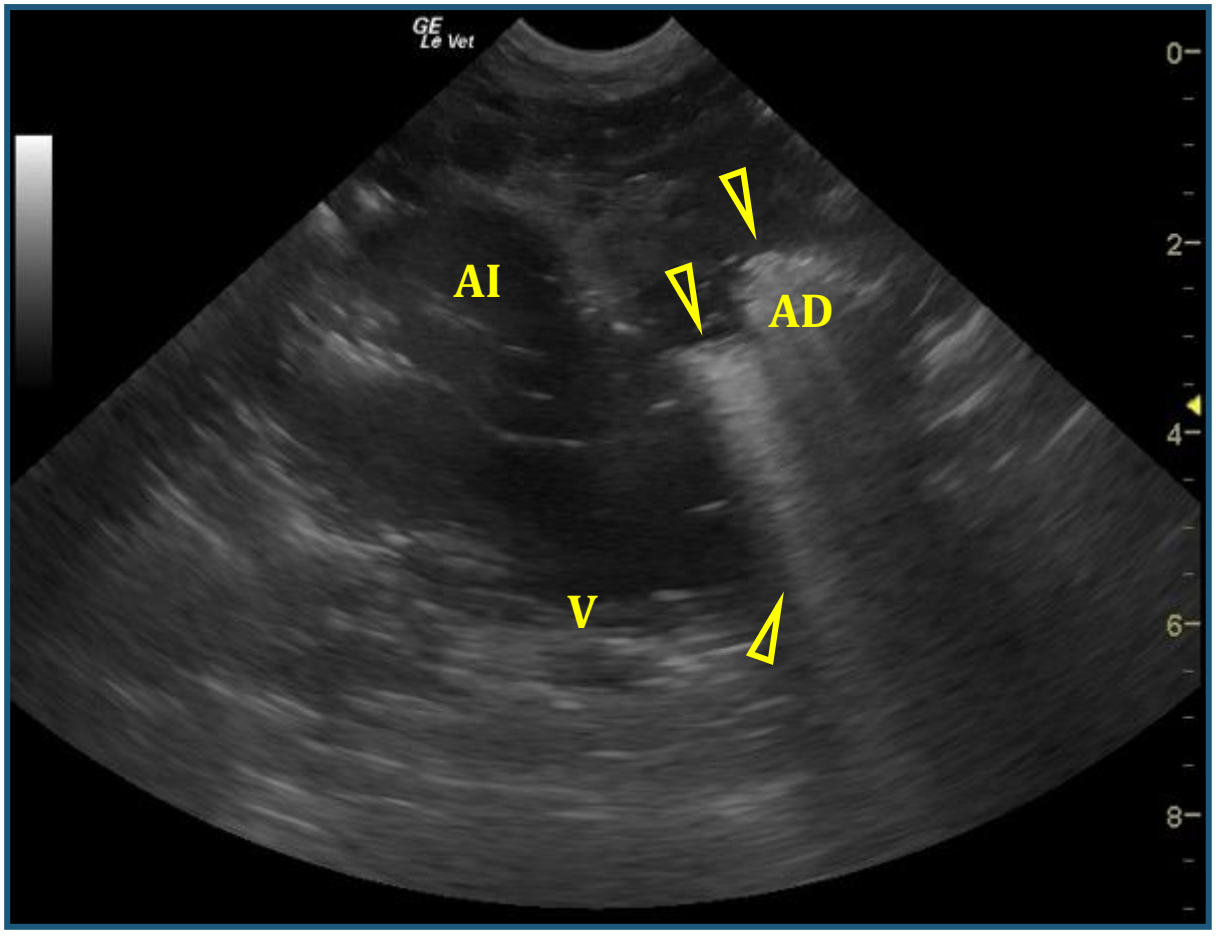


Figura 54: Imágenes ecocardiográficas obtenidas en una tortuga marina con EG moderado mediante sonda microconvex de 8 MHz. AI Atrio izquierdo. AD Atrio derecho V ventrículo. Nótese la presencia de abundante gas atrapado en la pared del atrio derecho generando un fuerte artefacto en cola de cometa (flechas).

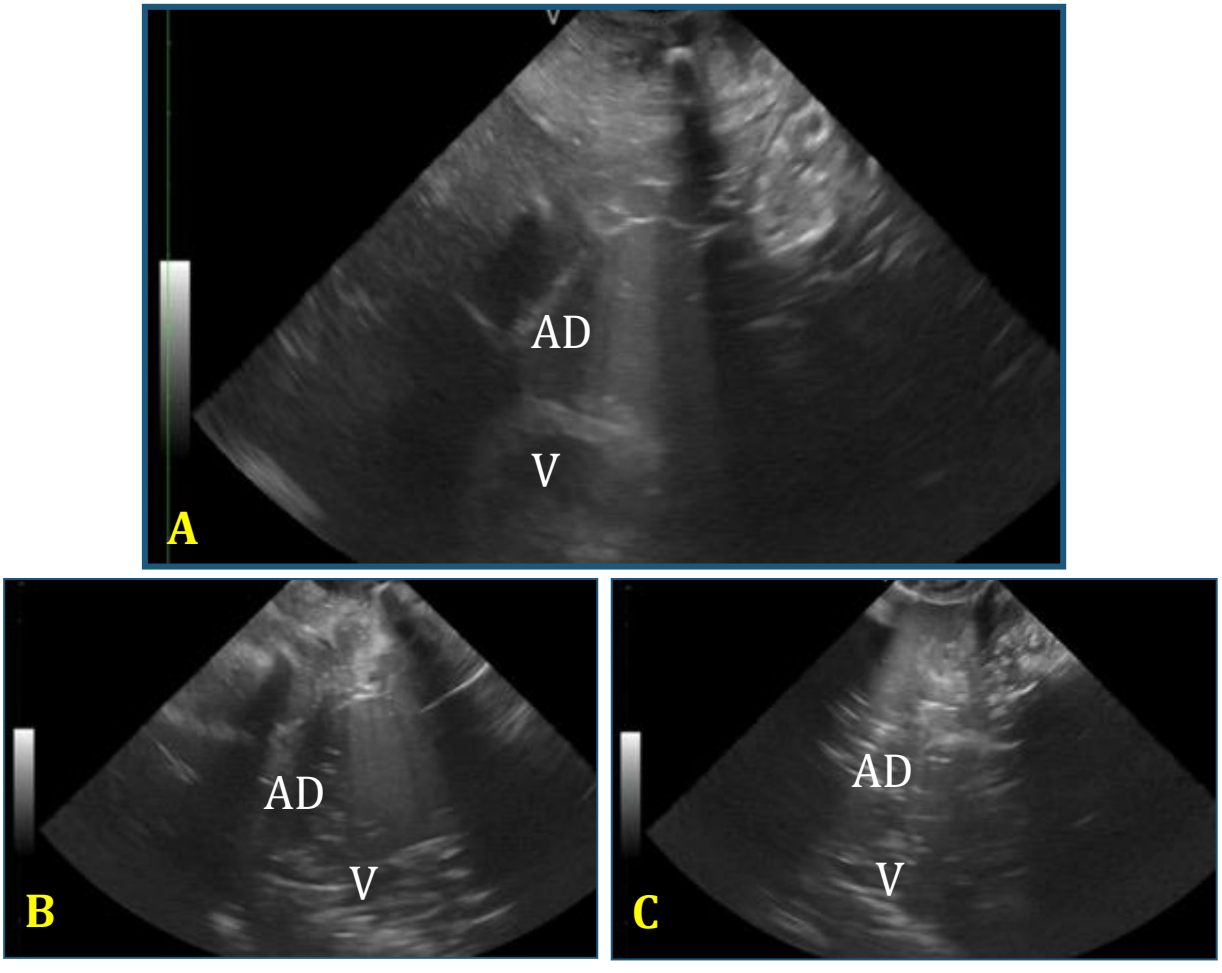


Figura 55: Imágenes ecocardiográficas obtenidas en tortugas marinas con sonda microconvex de 8 MHz. A Animal sano sin signos de embolismo. B y C: presencia de gas en cámaras cardiacas. Burbujas circulantes y retenidas en la pared de atrios y ventrículos. AD: Atrio derecho. V Ventrículo.

Examen tomográfico

A lo largo de este periodo hemos realizado exploraciones de TC a 42 tortugas marinas, 27 de las que llegaron vivas y 15 en cadáveres con imagen radiográfica compatible con descompresión.

En base a nuestra experiencia, el TC supone el mejor método diagnóstico para cuantificar y evaluar con precisión la distribución de las burbujas de gas en los diferentes órganos y tejidos (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2017). Sin embargo, generalmente no es una técnica fácilmente accesible para la mayoría de los centros de recuperación de fauna marina. Además, la tomografía puede requerir anestesia o al menos sedación en individuos activos lo que en algunos casos puede ser una limitación dependiendo de la condición del paciente. En nuestro caso empleamos dosis bajas de propofol de 2 a 7 mg kg^{-1} BW IV (en animales pequeños dosis menores) dependiendo del estado de consciencia del individuo, lo que confiere una sedación de aproximadamente 10-30 minutos en la mayoría de los ejemplares, suficiente para completar la exploración. En caso de que el proceso se alargue empleamos 1-2 mg kg^{-1} BW adicionales según la respuesta. En algunos pacientes el vendaje de los ojos puede ser suficiente para conseguir el estado de relajación necesario para ejecutar la exploración sin necesidad de fármacos (**Figura 56**).

En la exploración tomográfica para el diagnóstico de DCS, se debe incluir al animal de cuerpo entero con una resolución máxima y un mínimo espesor de corte con el fin de poder aumentar la sensibilidad y detectar hasta las burbujas más pequeñas. Bien es cierto que, en comparación con otras especies, las tortugas parecen llegar a acumular cantidades de nitrógeno mucho mayores en el compartimento vascular y los tejidos (macroembolismo), siendo éste fácilmente detectable incluso en los casos leves. El gas en las imágenes de TC provoca una hipo-atenuación de los vasos o regiones donde se encuentra con respecto a los tejidos circundantes, haciendo que estas zonas aparezcan más oscuras o incluso de color negro. Los vasos sanguíneos cuando se encuentran completamente llenos de gas se definen perfectamente por contraste negativo con el entorno.

A la hora de la interpretación, es importante tener en cuenta que la presencia de gas en el aparato digestivo, en bullas timpánicas y en el aparato respiratorio es fisiológica. Las burbujas asociadas al contenido digestivo de las vísceras intracelómicas puede ser el que puede llevar a una mayor confusión (**Figura 59**) si bien es cierto que las tortugas marinas sanas generalmente no presentan demasiado gas en el tracto digestivo. En cuanto a la generación de artefactos, la presencia de epibiontes en la superficie de la tortuga también puede generar interferencias con la lectura para la

detección del gas patológico, especialmente cuando se hacen reconstrucciones 3D a partir de las adquisiciones (**Figura 72**).

Además, las imágenes de TC proporcionan información adicional acerca de la presencia de gas en áreas donde la ecografía no puede penetrar y la radiología no ofrece suficiente resolución espacial como el parénquima del SNC y el espacio dentro del canal vertebral. De hecho, hay que destacar que frecuentemente se observan burbujas en la región de la médula espinal, incluso en individuos levemente afectados (

Figura *61*) lo que hace pensar en la posible existencia de daños subletales (en los supervivientes) asociados a este tejido tan sensible.

Las exploraciones de TC también las hemos venido realizando en casos moderados o severos para evaluar la respuesta al tratamiento cuando queríamos verificar la resolución total del EG en casos moderados o severos sometidos a tratamiento hiperbárico. Siendo la técnica cuantitativa más sensible, nos ayudó mucho a ajustar los tiempos de la terapia HBOT.



Figura 56: Adquisición tomográfica en tortugas marinas con signos de descompresión en las instalaciones del Hospital Valencia Sur. Los animales generalmente se introducen sedados con propofol para minimizar el movimiento.



Figura 57: Tortuga con los ojos vendados durante su exploración tomográfica en las instalaciones del Oceanográfic.

A demás de los signos de EG, el TC es una técnica muy sensible para confirmar el grado y la extensión de la afectación del parénquima pulmonar tras la aspiración de agua de mar. Esta evaluación es importante en el paciente afectado de descompresión pues de la funcionalidad pulmonar dependerá también su capacidad de recuperación. Es a través del pulmón donde el animal debe realizar el intercambio gaseoso para re-oxigenarse y eliminar el exceso de nitrógeno. En caso de aspiración de agua de mar, el parénquima se ve más hiperatenuado (blanco) con un realce en la definición de los faveolos como consecuencia del aumento de líquido dando una imagen de celdillas (**Figura 58**).

El post-procesado de imagen tras la adquisición tomográfica permite obtener mucha información adicional del paciente al ingreso y tras la aplicación del tratamiento. Aunque ya no es objeto de esta Tesis Doctoral, la información derivada del tratamiento de las imágenes generadas será muy relevante en estudios futuros: desde la obtención de los diferentes cortes y toma de medidas en los tres planos: transversal, coronal y sagital, hasta las técnicas de reconstrucción segmental en 3D o los programas de cuantificación por segmentación de volúmenes de gas, líquido o hueso, por ejemplo. La eliminación de los propios pulmones de la imagen en las reconstrucciones volumétricas 3D de los animales afectados

por descompresión, puede facilitar el mapeado de la cantidad y distribución del nitrógeno en los distintos compartimentos a la hora de comparar patrones de embolismo en base a la tipología de las pesquerías por ejemplo (**Figura 73**).

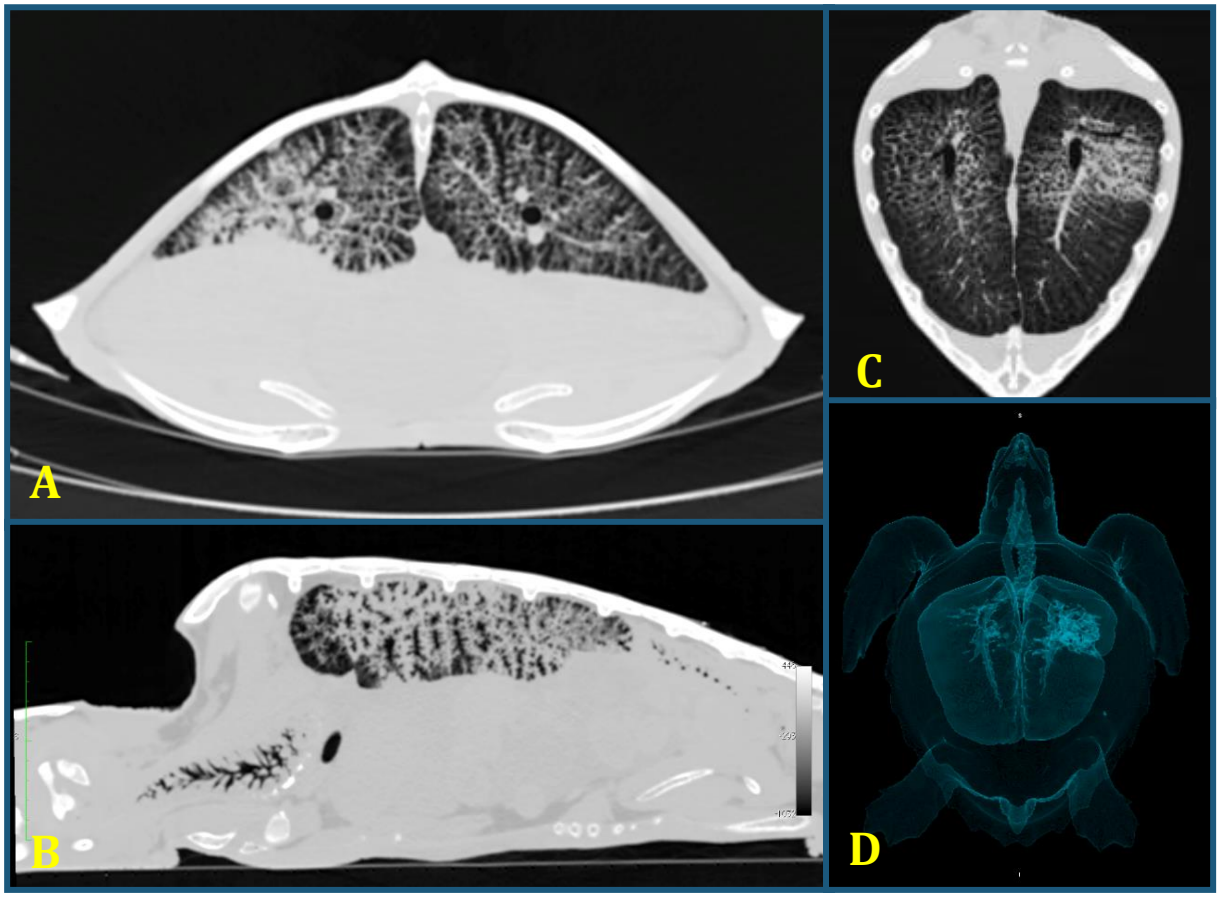


Figura 58: Hallazgos tomográficos en un individuo con leve aspiración de agua de mar afectando principalmente a la región perihiliar del pulmón izquierdo y levemente al derecho. A. Sección transversal a la altura del corazón. El pulmón izquierdo aparece marcadamente hiperatenuado. B. Sección parasagital atravesando la zona afectada por el edema. Nótese el engrosamiento de la pared de los faveolos. C Sección coronal u horizontal de ambos pulmones mostrando las regiones hiperatenuadas compatibles con edema por aspiración. D Vista dorsal de una Reconstrucción Volumétrica en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior del animal. Se puede evidenciar un realce de la señal en la zona del pulmón izquierdo donde se circunscribe el edema pulmonar tras la aspiración.

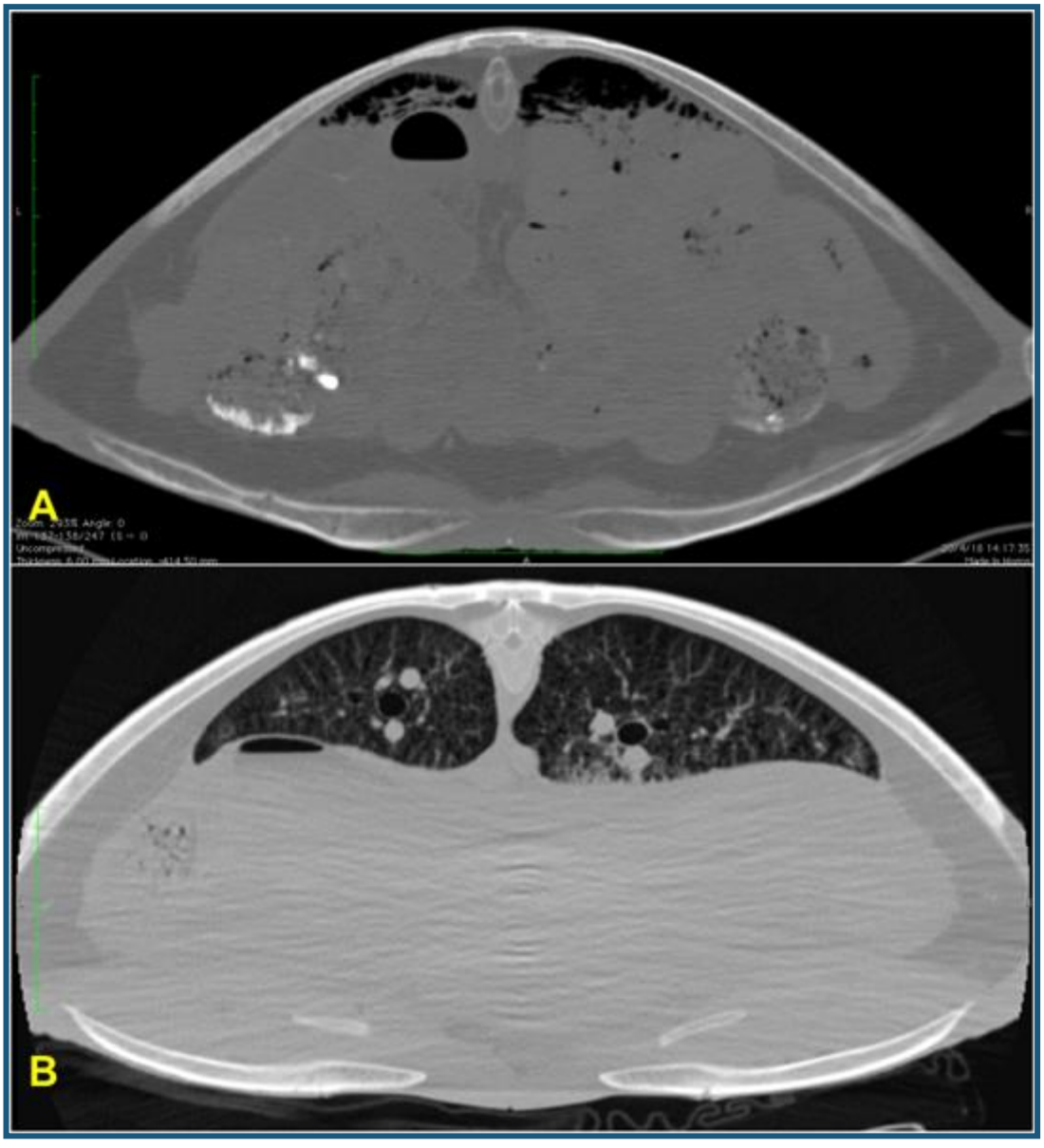


Figura 59: Adquisición tomográfica transversal de dos tortugas marinas donde se puede observar la presencia de gas asociado al tracto digestivo. Es importante distinguir estos posibles hallazgos con el EG por descompresión. A Región media caudal del celoma donde se observan distintas asas intestinales en sección transversal con contenido mineral (hiperatenuado, blanco) y algo de gas asociado (hipoatenuado, negro). B Región media con evidencia de cierta presencia de gas asociado al contenido estomacal (a la izquierda de la imagen).

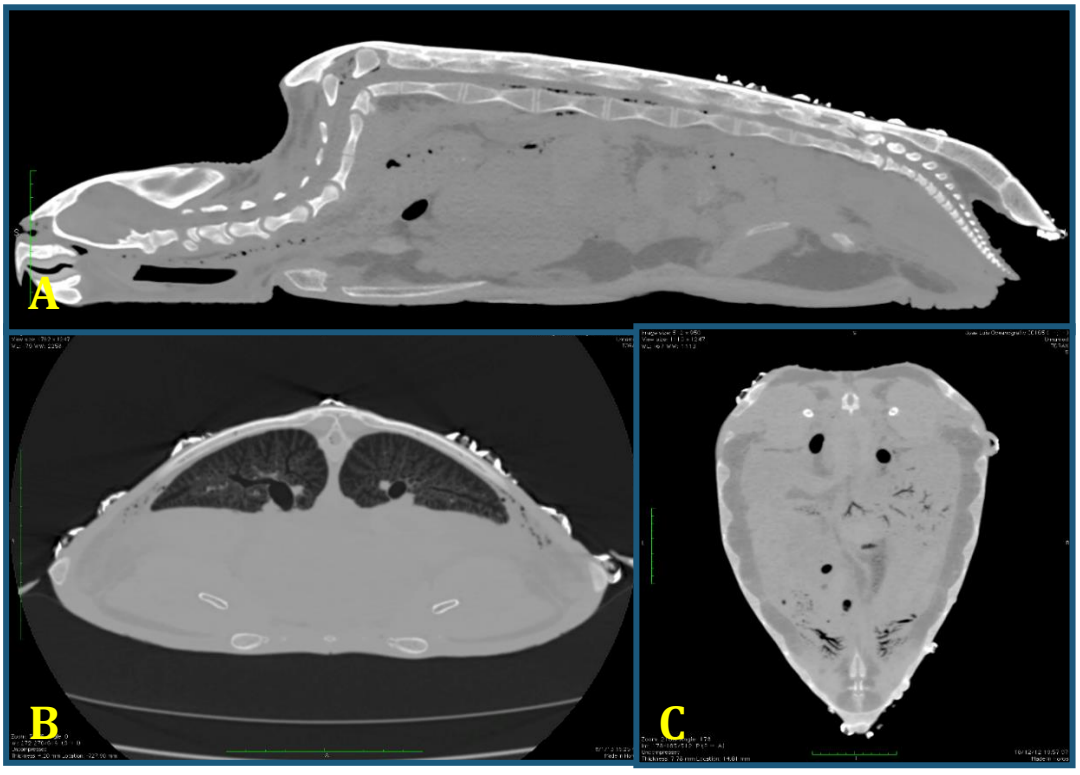


Figura 60: Hallazgos tomográficos representativos asociados a un caso de embolismo leve-moderado. A Sección tomográfica sagital mostrando la presencia de gas en el canal vertebral. B Ausencia de gas en cámaras cardiacas o parénquima hepático a nivel craneal. En este corte sólo es perceptible la presencia de algo de gas patológico en la grasa pericelómica. C. Corte coronal u horizontal justo por debajo del plano pulmonar. Se puede evidenciar la presencia de aire en vasculatura renal y algo también en la región media del hígado.

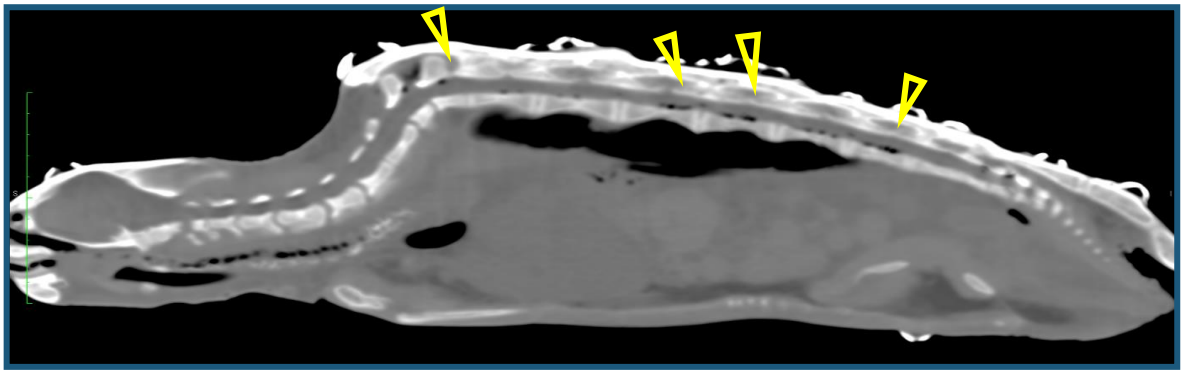


Figura 61: Ejemplar afectado por un grado leve de embolismo mostrando la presencia de burbujas de gas en el canal vertebral. El gas localizado en esta región no es detectable mediante radiografía simple ni ecografía, debiendo recurrir a la tomografía para su confirmación.

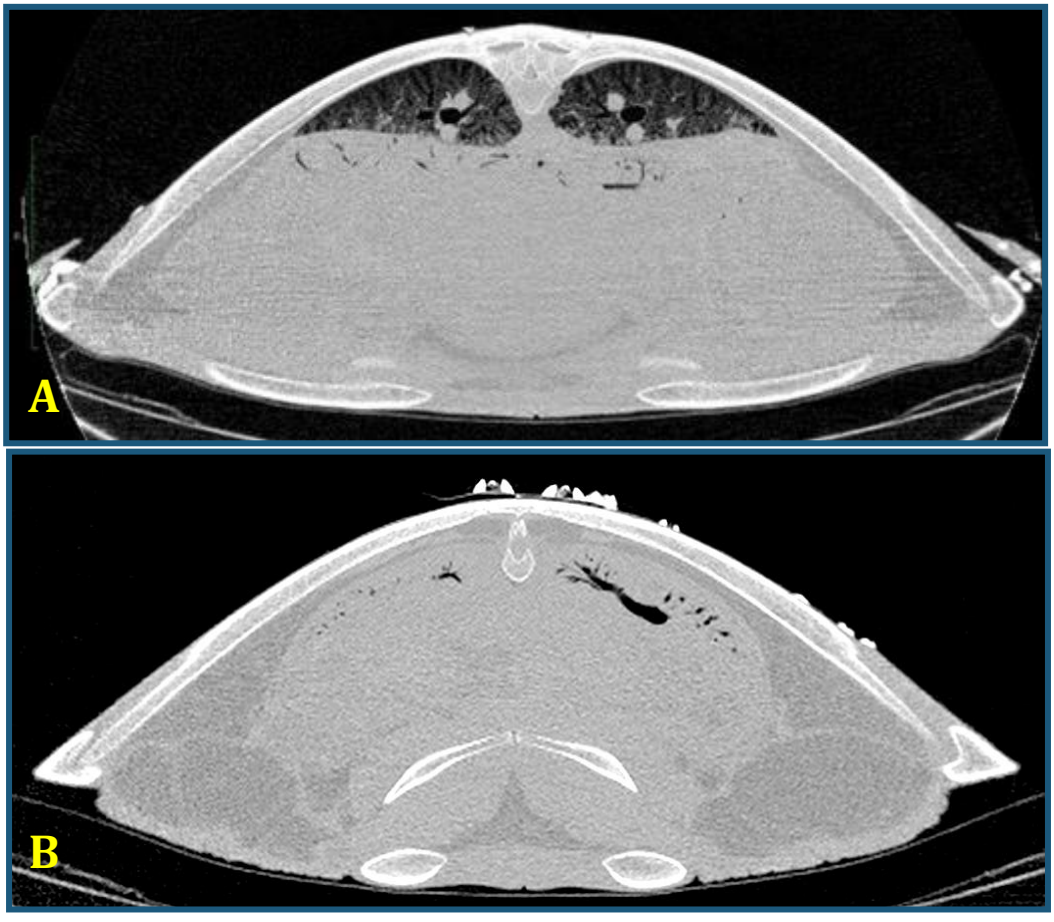


Figura 62: Imágenes de detalle mostrando hallazgos tomográficos en sección transversal de embolismo leve a moderado. A. Sección a nivel del corazón donde sólo se puede llegar a detectar algo de gas patológico en la región más dorsal de la vasculatura hepática. Esta región normalmente por su ubicación en profundidad en el celoma no es explorable por ecografía y si las cantidades de gas no son muy grandes tampoco se puede evidenciar por radiografía. Así la tomografía es la técnica de elección en estos casos más leves para confirmar la presencia y distribución del gas. B. Sección a nivel de los riñones mostrando una mayor presencia de gas en las venas renales del lado derecho. El riñón si es fácilmente accesible para su exploración por ecografía en prácticamente todos los animales.

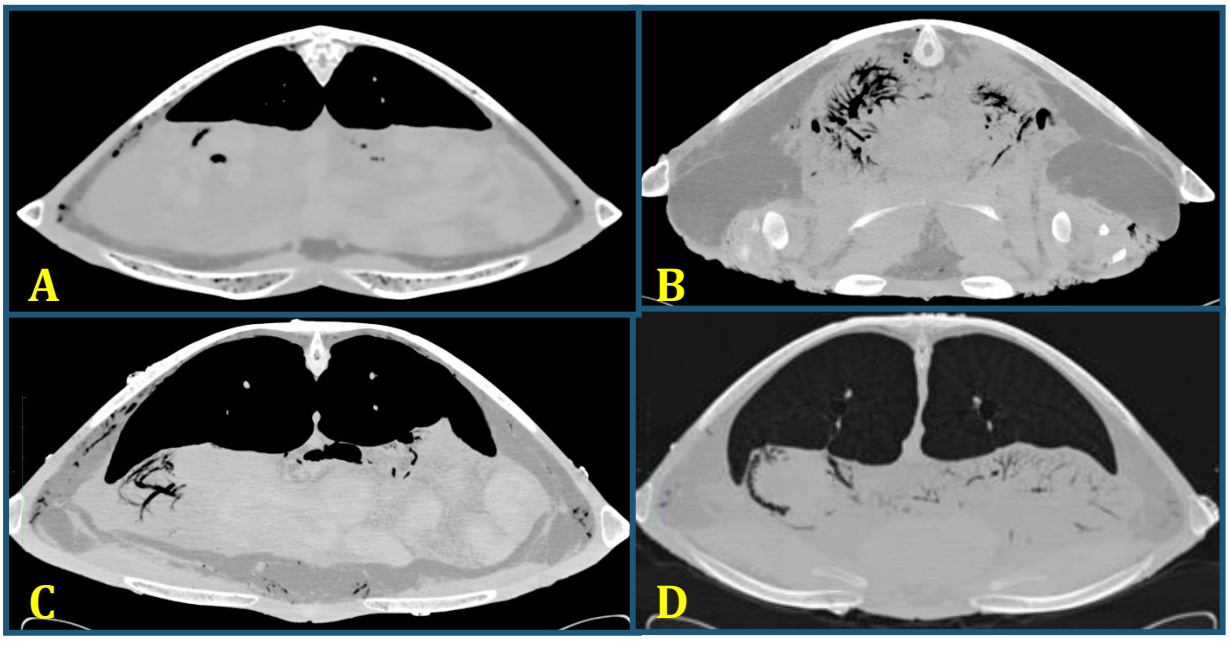


Figura 63: Hallazgos tomográficos representativos asociados a casos de embolismo moderado. A Nótese la presencia de gas infiltrado en la grasa pericelómica y en algunos vasos mesentéricos. B Gas presente en vasculatura renal, pero en este caso no es detectable en grasa pericelómica. C Gas en grasa pericelómica y en vasculatura mesentérica asociada al tracto digestivo (centro e izquierda de la imagen) D. Gas en vasculatura de la pared gástrica (izquierda de la imagen), hígado (derecha de la imagen) y en grasa pericelómica.

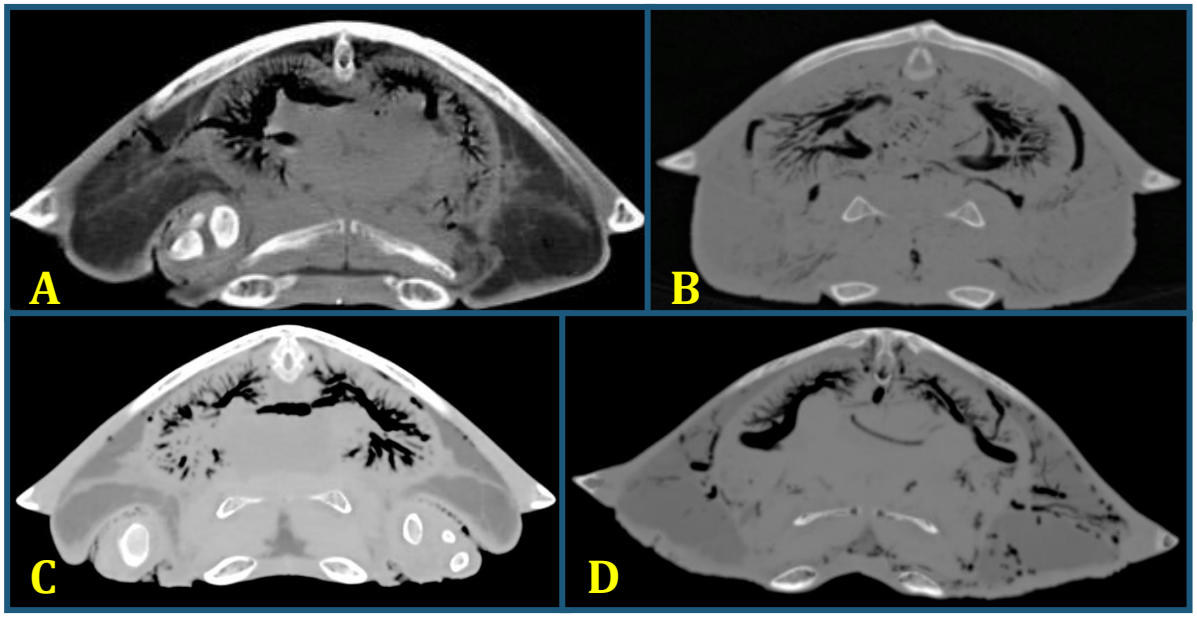


Figura 64: Diferentes imágenes de embolismo renal grave asociados a casos de EG moderado (B y C) y severo (A y D). Nótese el detalle de los angiogramas por hipo-atenuación de toda la vasculatura renal.

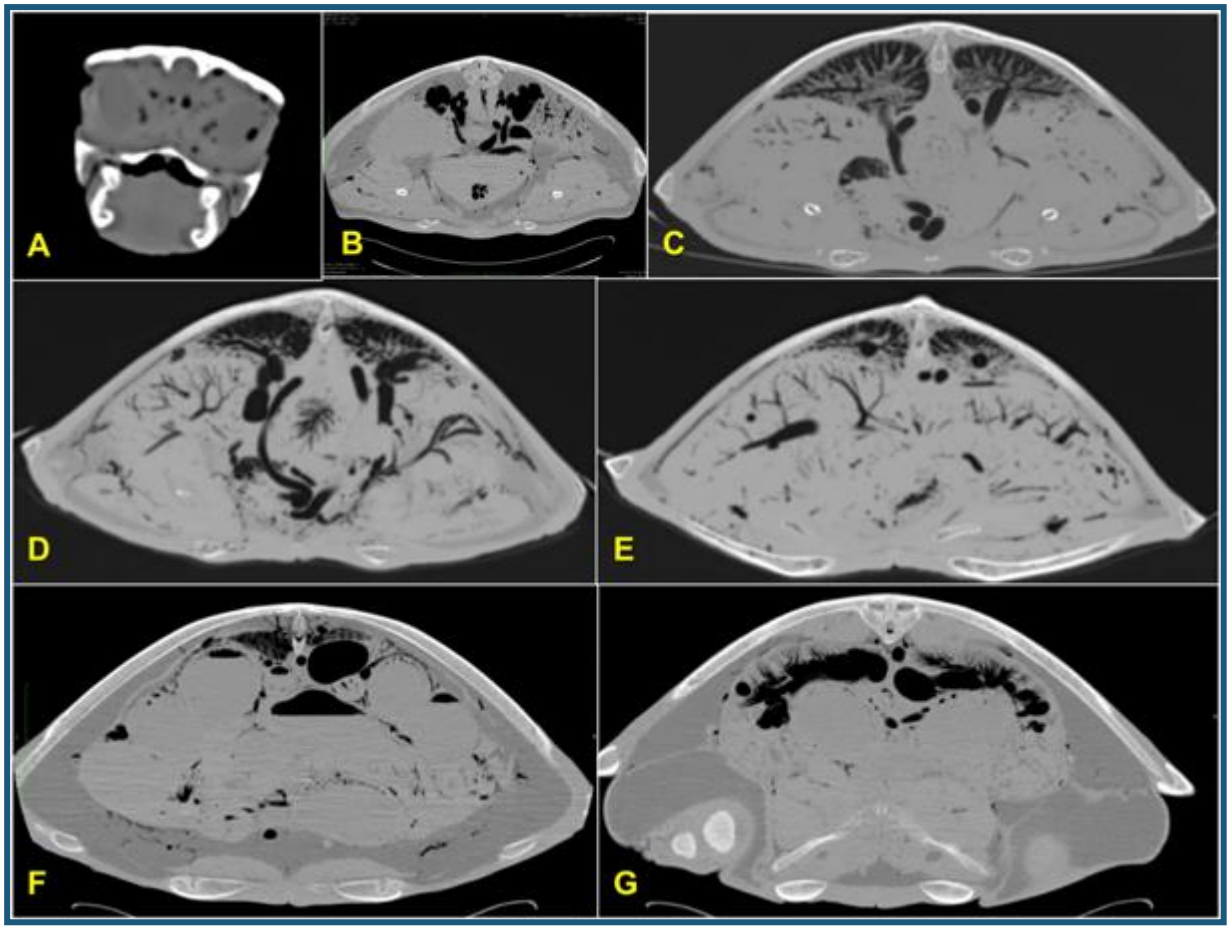


Figura 65: Imágenes más representativas de TC en sección transversal de cabeza a cola de un animal afectado por EG severo. A Cabeza. Se puede observar la presencia de gas en el interior de los globos oculares y el espacio retrobulbar. B, Región celómica craneal a la altura de la base del corazón. Región media craneal donde se puede ver perfectamente el atrio derecho lleno de gas, así como los principales vasos a la salida del corazón. D y E región media del celoma donde se evidencian grandes vasos a la salida del corazón y la vascularización hepática completamente distendida por el gas. Nótese también la restricción en la expansión del campo pulmonar como consecuencia de la expansión del hígado. F Región celómica media caudal. Se observan fundamentalmente asas intestinales con aire en su interior pero también se evidencia gas en vasos mesentéricos, en la grasa pericelómica y en el canal vertebral. G. Región celómica posterior con presencia masiva de gas a nivel de toda la vasculatura renal. El gas es también visible en el interior del canal vertebral.

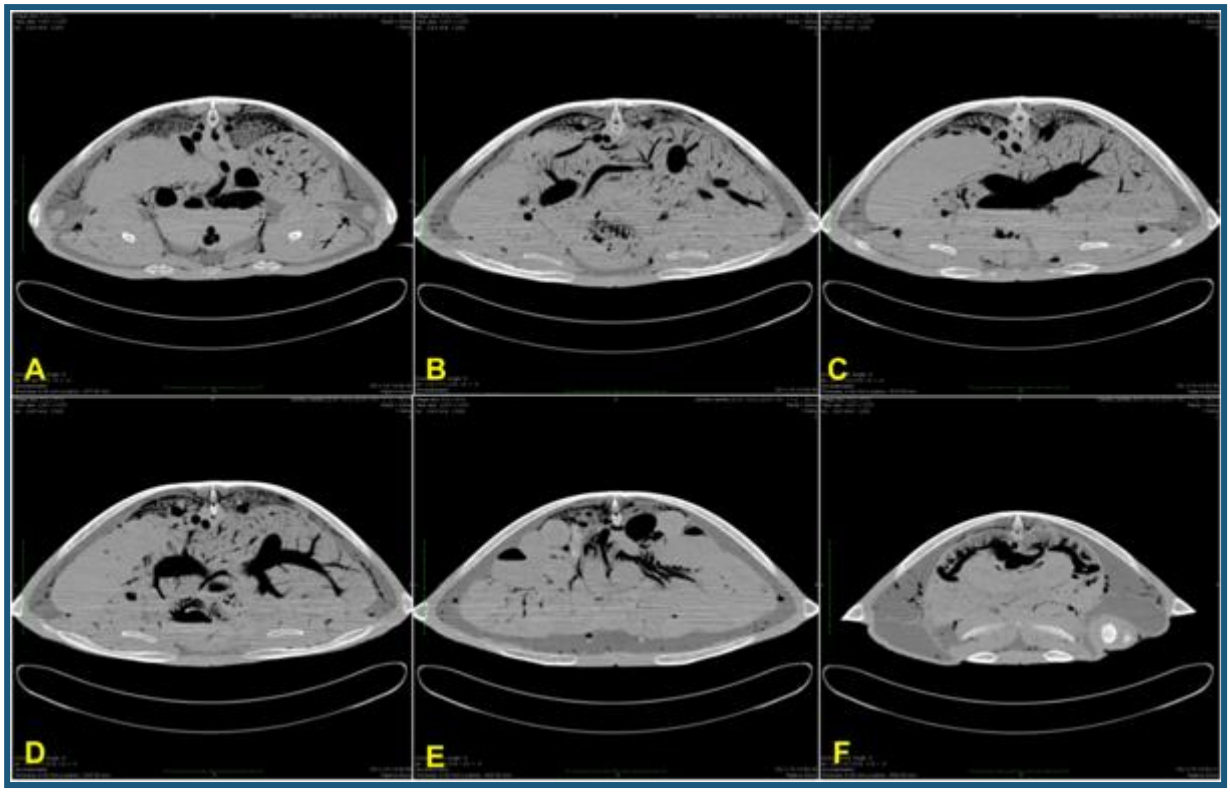


Figura 66: Imágenes tomográficas tipo en sección transversal de celoma craneal a caudal en un ejemplar afectado por EG severo. A Nótese la presencia de gas en cámaras cardiacas (A), la distensión de las venas hepáticas por el gas (B, C, D), la presencia de gas en el tronco mesentérico (E) y el gas delimitando toda la vasculatura renal (F). El colapso pulmonar por la expansión de las vísceras y órganos celómicos es evidente (A, B, C, D, E).

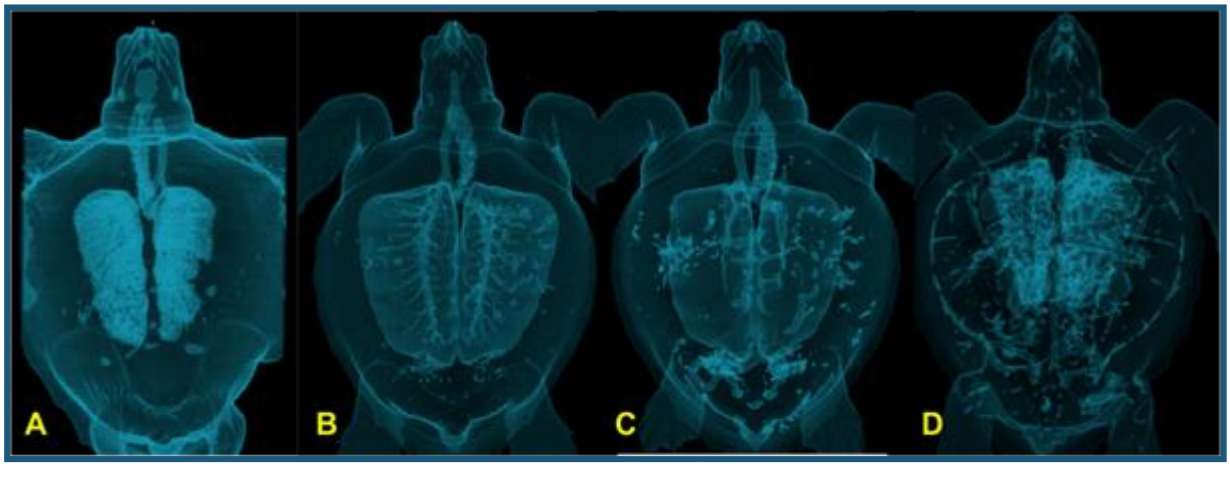


Figura 67: Vista dorsal de 4 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior de los animales, correspondientes a los 4 grados de afectación por EG. A Sin EG, B EG Leve, C EG Moderada, D EG Severa. A medida que el embolismo aumenta en severidad, se observan más regiones que contienen gas extrapulmonar. En el caso A, sin EG, las zonas de gas extrapulmonar se corresponden con gas en el interior del aparato digestivo.

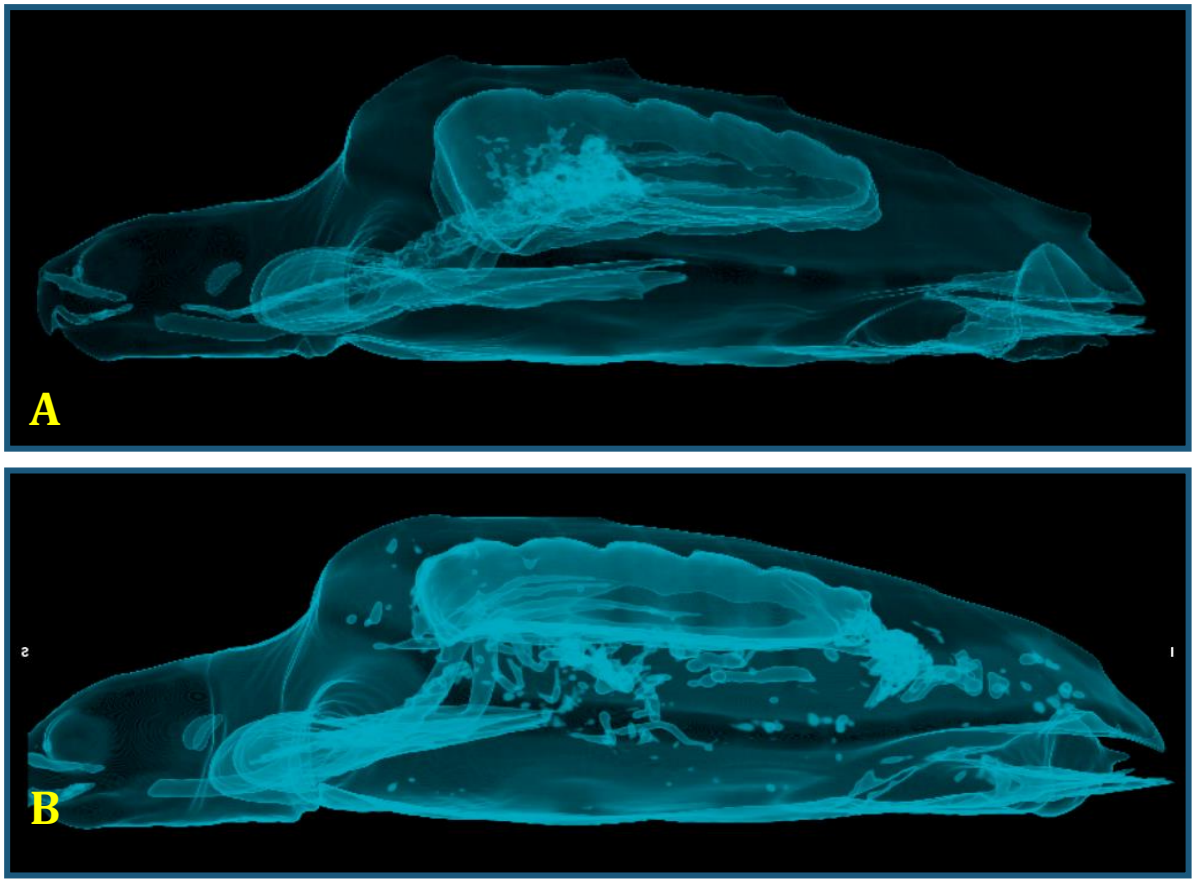


Figura 68: Vista lateral de 3 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior de las tortugas, correspondientes a un caso sin EG (A) y a un caso con EG moderado (B). El gas patológico se evidencia fundamentalmente en vasos hepáticos y sobre todo renales (caudales al pulmón). Nótese la reducción en la expansión del campo pulmonar.

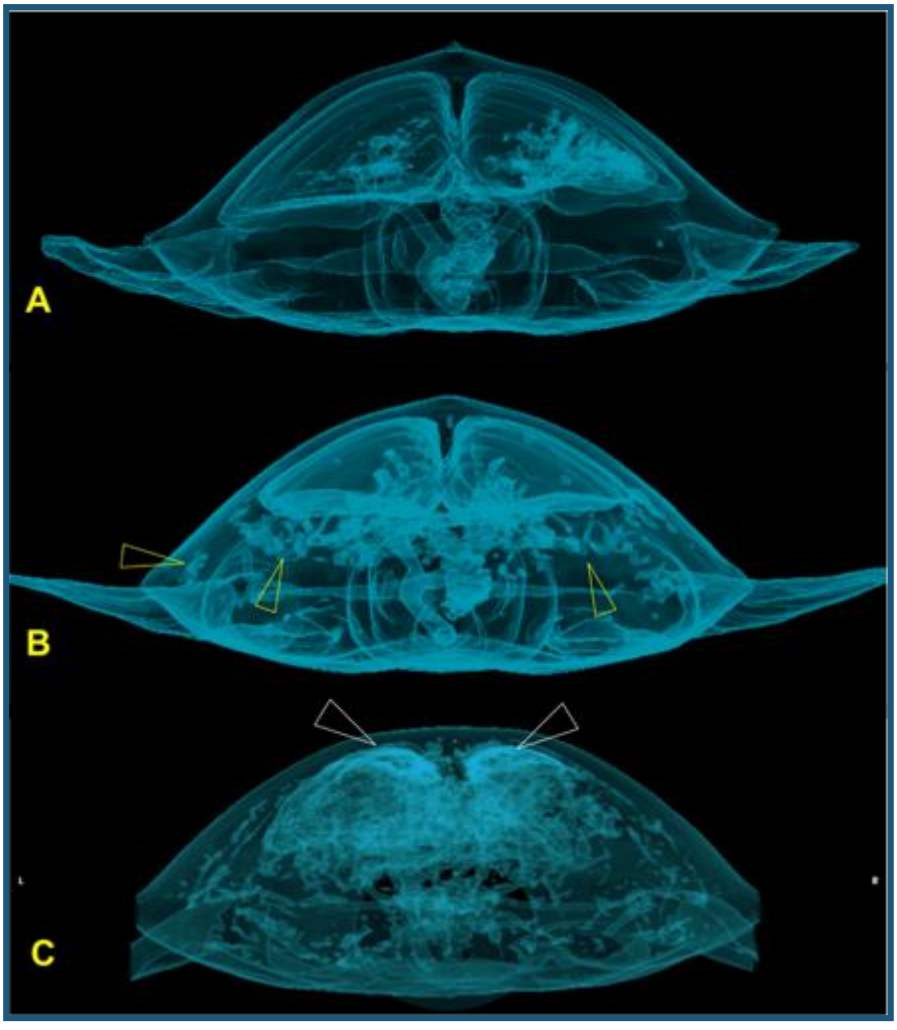


Figura 69: Vista craneal o anterior de 3 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire en el interior de las tortugas, correspondientes a un caso sin EG (A), un caso con EG moderado (B) y un caso con EG severo (C). Una vez más a medida que el embolismo aumenta en severidad, se observan más regiones que contienen gas extrapulmonar y se pierde la definición de las estructuras. B El gas patológico se evidencia en vasos hepáticos y grasa pericelómica (flechas amarillas). C El pulmón quede completamente comprimido contra el interior del espaldar (flechas blancas) como consecuencia de la sobreexpansión hepática por efecto del gas.

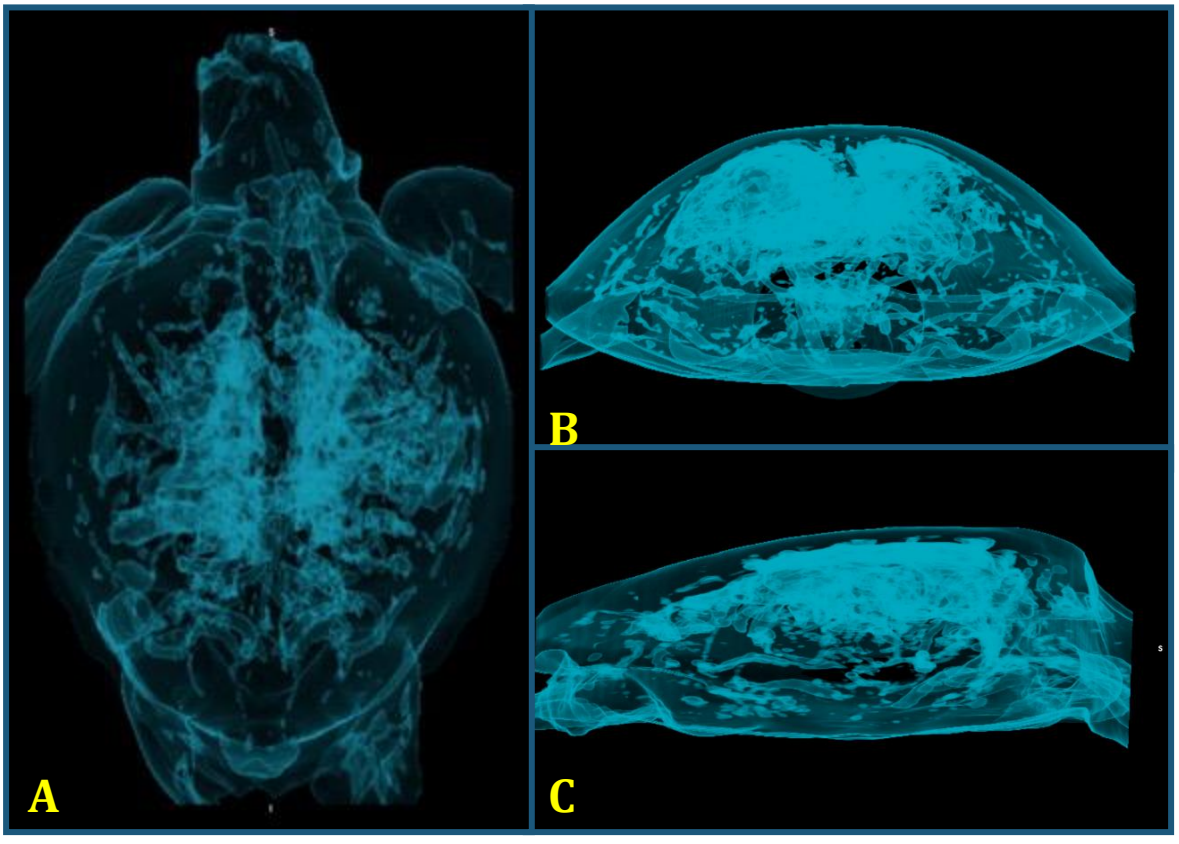


Figura 70: Vista dorsal (A), craneal (B) y lateral (C) de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG severo mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. Nótese la pérdida de definición del campo pulmonar que queda muy reducido de tamaño y la distribución del gas patológico por toda la vasculatura del animal. En la vista dorsal, el pulmón impide ver con nitidez el resto de los órganos afectados.



Figura 71: A Vista dorsal de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG severo masivo mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. En casos tan severos llega a hacerse evidente por el contraste del gas hasta la vasculatura principal de las extremidades.

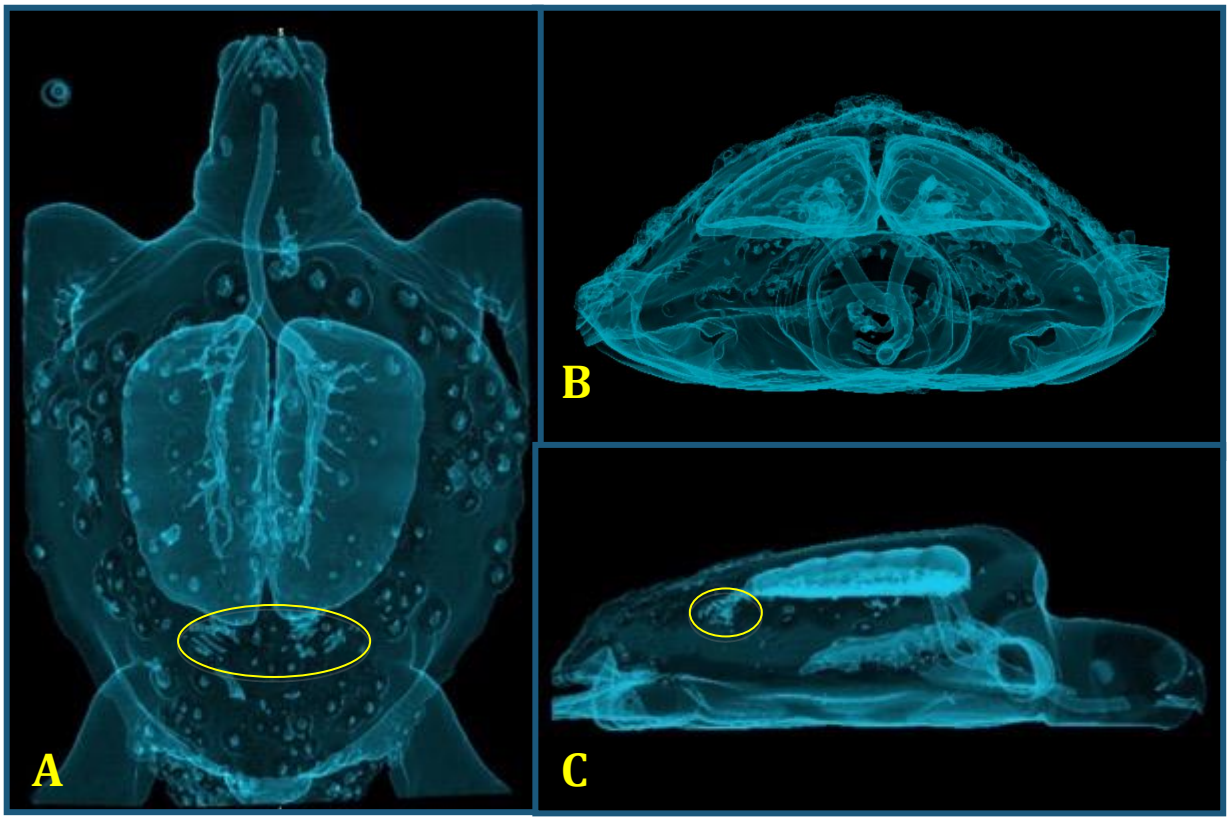


Figura 72: Vista dorsal (A), craneal (B) y lateral (C) de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG leve mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. Nótese la presencia de gas patológico únicamente en la región renal (óvalos). La presencia de cirrípedos epibiontes adheridos a su caparazón, generan un artefacto que complica el diagnóstico y podría llevar a confusión.

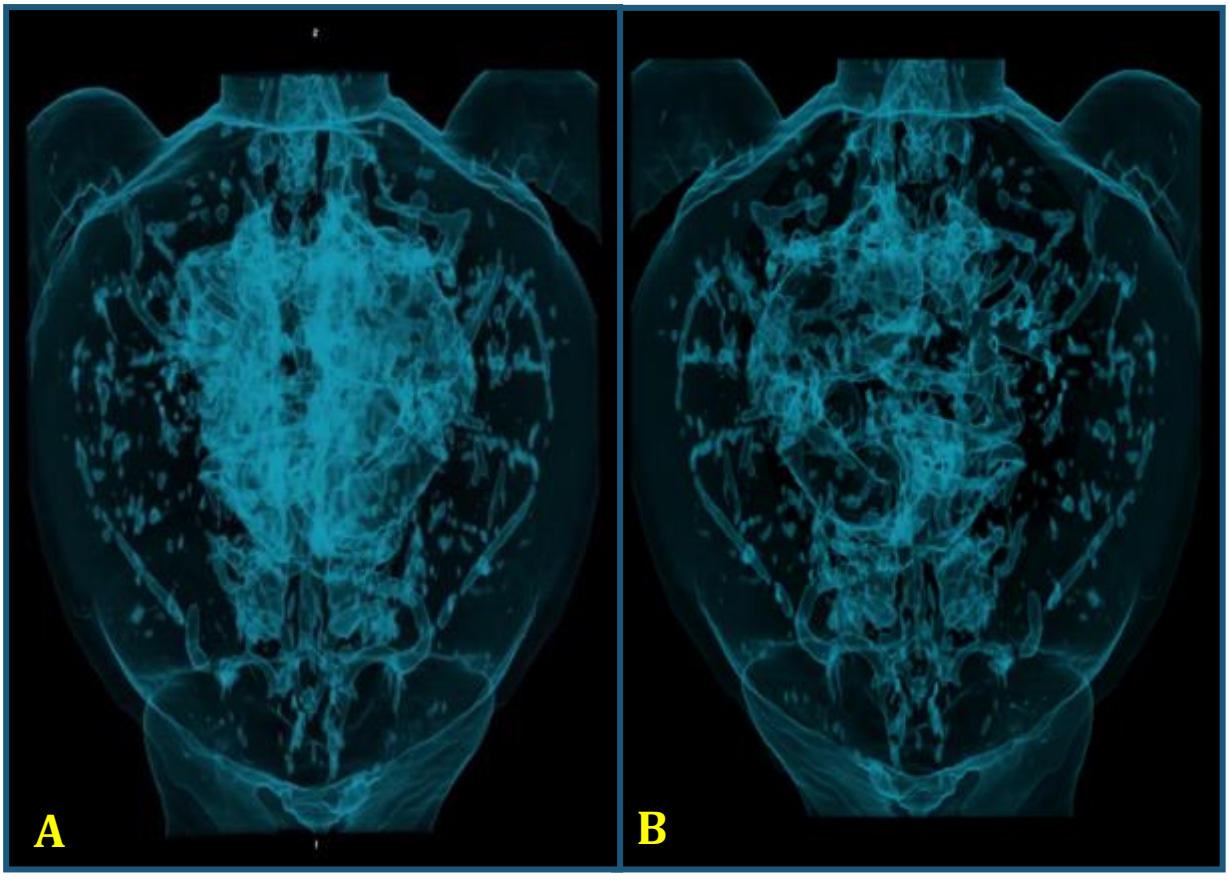


Figura 73: Vista dorsal de una reconstrucción volumétrica en 3D de una tortuga con EG severo mostrando las cavidades llenas de aire en su interior. Nótese la pérdida de definición del campo pulmonar que queda muy reducido de tamaño y la distribución del gas patológico por toda la vasculatura del animal. En la vista dorsal, el pulmón impide ver con nitidez el resto de los órganos afectados (A). Tras la eliminación de los pulmones del modelo 3D y evitar el solapamiento, se puede valorar mucho mejor la distribución y alcance del gas en cámaras cardiacas, región hepática y grandes vasos.

Estudios de Resonancia Magnética

A lo largo de este periodo y a través de algunos estudios preliminares, hemos podido evidenciar que la resonancia magnética nuclear (RMN) puede ofrecer un potencial adicional para evaluar el daño tisular y la presencia de secuelas en los supervivientes tras un incidente de EG. Las alteraciones anatómicas, la falta de circulación/perfusión tisular o incluso la modificación de la actividad metabólica de ciertos tejidos puede proporcionar información relevante acerca de la magnitud de los daños causados (Wyneken et al., 2013b). En este periodo se han realizado resonancias magnéticas en un total de 6 animales con el fin de evaluar la presencia de lesiones renales, cardiacas o neurológicas: 2 sin afectación de EG, 1 caso leve, 2 moderados y 1 severo. Los 4 casos de embolismo fueron tratados en cámara hiperbárica y la resonancia tuvo lugar entre 3 y 21 días después del tratamiento. Gracias a esta técnica, hemos podido evidenciar la presencia de lesiones subletales renales y en sistema nervioso central en dos animales supervivientes tras la aplicación del tratamiento HBOT: un caso afectado por EG moderado y otro por embolismo severo. Las lesiones a nivel renal fueron más evidentes trascurridas 3 semanas del evento descompresivo que a los pocos días del insulto. Uno de estos animales tuvo que ser sacrificado como consecuencia de un daño neurológico permanente (parálisis y perdida de sensibilidad en la mitad posterior del cuerpo) y las lesiones neurológicas y renales detectadas en la resonancia se pudieron confirmar también en histopatología, evidenciando de algún modo la validez de la técnica en tortugas marinas para la detección de secuelas *in vivo*. En estudios posteriores se pudo evidenciar también que las imágenes ecográficas del parénquima renal también se veían afectadas tras el evento descompresivo (**Figura 108**).

La RMN aplicada tras el diagnóstico y la terapia correspondiente o incluso en individuos de origen desconocido en los que se sospeche que han podido sufrir algún accidente descompresivo al quedar retenidos un tiempo en profundidad, puede por tanto ofrecer información adicional sobre el pronóstico con el fin ayudar a determinar el nivel de daño tisular y la presencia de secuelas en tortugas supervivientes antes de su devolución al mar. Este es un campo muy interesante para explorar a futuro y en el que actualmente seguimos trabajando mediante las técnicas de RMN y ecografía renal. Es vital conocer si algunos de los animales que sobreviven al insulto inicial y evolucionan favorablemente en el CR, son capaces de sobrevivir en medio natural tras su devolución al mar. A pesar del limitado número de casos, podemos decir que no es descartable que incluso con la aplicación del tratamiento específico de descompresión, un cierto número de casos pueda desarrollar secuelas que mermen su capacidad de sobrevivir tras su retorno al mar

Estas lesiones podrían ser aún más frecuentes en animales no tratados donde los fenómenos isquémicos y obstructivos se pueden prolongar durante horas, de ahí la importancia de continuar con los estudios en este campo.

Destacar que para la exploración con resonancia magnética las tortugas deben ser anestesiadas a dosis altas (en nuestro caso con propofol 7-9 mg kg^{-1} BW IV en bolo) para evitar el movimiento y permitir la obtención de imágenes de calidad. En algunos casos hemos visto que es ventajoso premedicar con tramadol 10 mg kg^{-1} BW para minimizar el estímulo que induce la oscilación del campo magnético asociada a la entrada de los gradientes. Incluso en un plano anestésico relativamente profundo, los animales pueden continuar moviéndose durante la adquisición, lo que dificulta el proceso. En esos casos generalmente suplementamos al animal con dosis de 2-4 mg kg^{-1} BW de propofol adicionales para conseguir mayor profundidad del plano. Las tortugas siendo especies magnetosensibles, podrían verse afectadas en el tiempo por el alto campo que emplean las resonancias de uso médico (en nuestro caso un 3 Tesla). Esta circunstancia también la hemos tenido en cuenta considerando que nuestra población de estudio son animales que deben volver al medio natural y mantener su capacidad de orientación intacta. El campo magnético empleado para generar imagen médica en los equipos de RMN de alto campo (3Tesla) es de 45.000 a 120.000 veces más potente que el campo magnético terrestre que emplean muchas especies animales como mecanismo de orientación para su navegación y que se oscila según la región geográfica entre 25-65µT. Este aspecto, y dado al elevado número de resonancias que planteamos inicialmente con el fin de valorar secuelas en tortugas supervivientes, nos llevó a pensar en la realización de estudio complementario paralelo sobre los posibles efectos deletéreos que podría tener la propia resonancia en especies magneto sensibles como las tortugas marinas. En esta línea y de forma preliminar, realizamos un trabajo con otra especie magneto sensible que sirviese de modelo por tener un comportamiento más predecible, la paloma doméstica.

Este estudio reveló que efectivamente, al menos a corto plazo, el alto campo de uso médico para la generación de imagen puede producir cierta disrupción al menos a corto plazo en la capacidad de orientación en especies sensibles al campo como las palomas y quizá también en las tortugas (García-Párraga et al 2020). A futuro prevemos un proyecto empleando sensores de orientación y actividad para medir los efectos de la resonancia en las tortugas marinas.

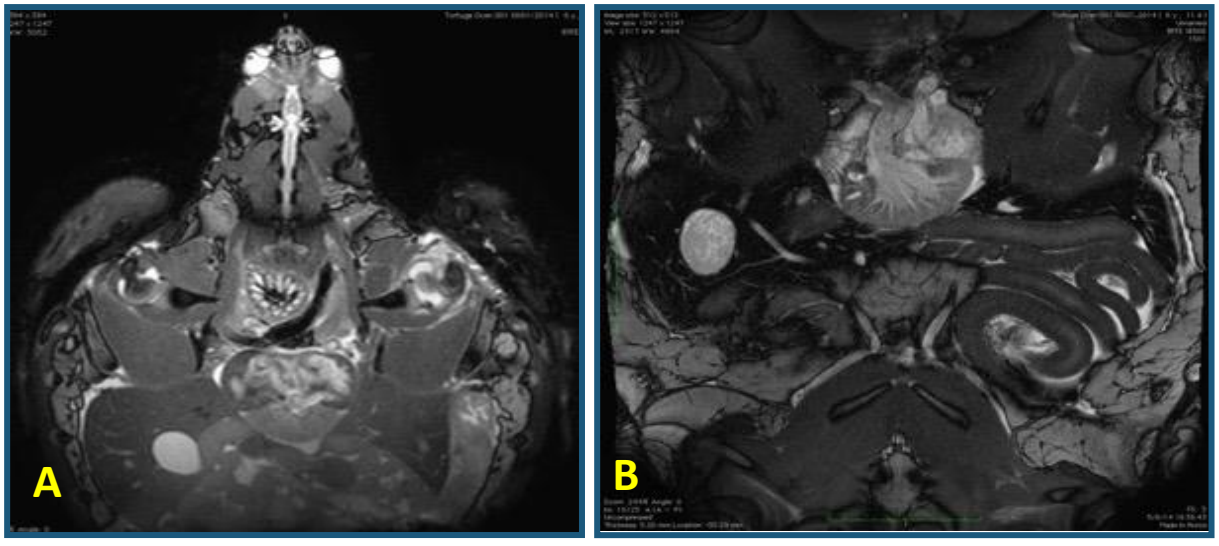


Figura 74: Imágenes coronales de RMN T2-weighted sin contraste mostrando la anatomía interna de la región craneal y media del celoma en tortugas sanas. Nótese la excelente resolución de imagen para evaluar los tejidos blandos.

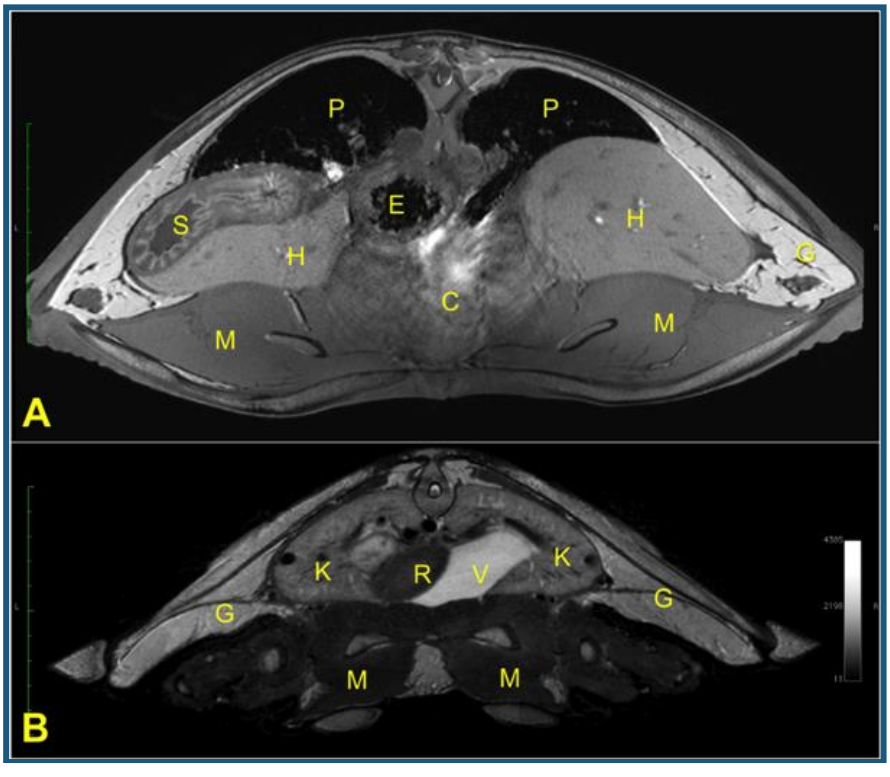


Figura 75: Imágenes axiales de RMN T2-weighted sin contraste mostrando la anatomía interna de la región craneal media (A) y caudal (B) del celoma en tortugas sanas. Nótese la excelente resolución de imagen para evaluar los tejidos blandos y la falta de resolución para los tejidos duros (hueso) o el aire (pulmón). P, pulmones; E, esófago; S, estómago; H, hígado, C, corazón (borroso por el movimiento durante el latido), G, grasa pericelómica; M, músculo; K, riñón, R, recto, V, vejiga de la orina.

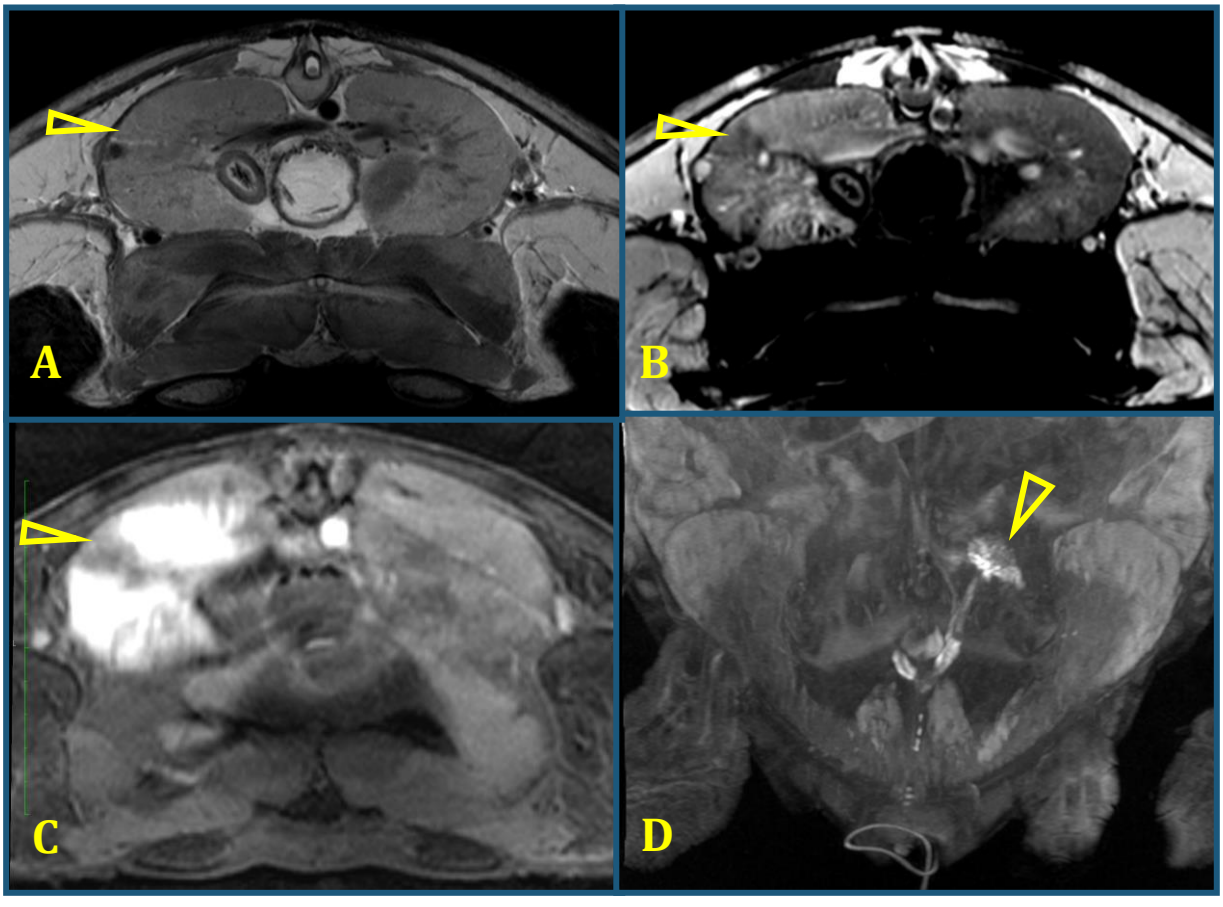


Figura 76: Imágenes de RMN asociadas con la presencia de lesiones renales en un animal afectado por EG severo y tratado con HBOT. A Imagen axial de RMN T2-Weighted donde se puede apreciar una lesión isquémica en cuña de bordes ligeramente hiperintensos en la corteza renal derecha (flecha). El animal fue capturado y tratado 4 días antes. B Imagen axial de RMN T1-Weighted del mismo animal 20 días después de la primera adquisición donde se puede apreciar la lesión renal hipointensa en cuña de forma mucho más evidente (flecha). C Urografía axial de contraste tras la administración de gadolinio 4 días tras la captura. Nótese la falta de captación de contraste en el riñón izquierdo y el defecto de llenado en la cuña afectada del riñón derecho (flecha). D Urografía coronal de contraste en fase tardía donde únicamente se evidencia producción de orina y eliminación de contraste por el riñón derecho (flecha).

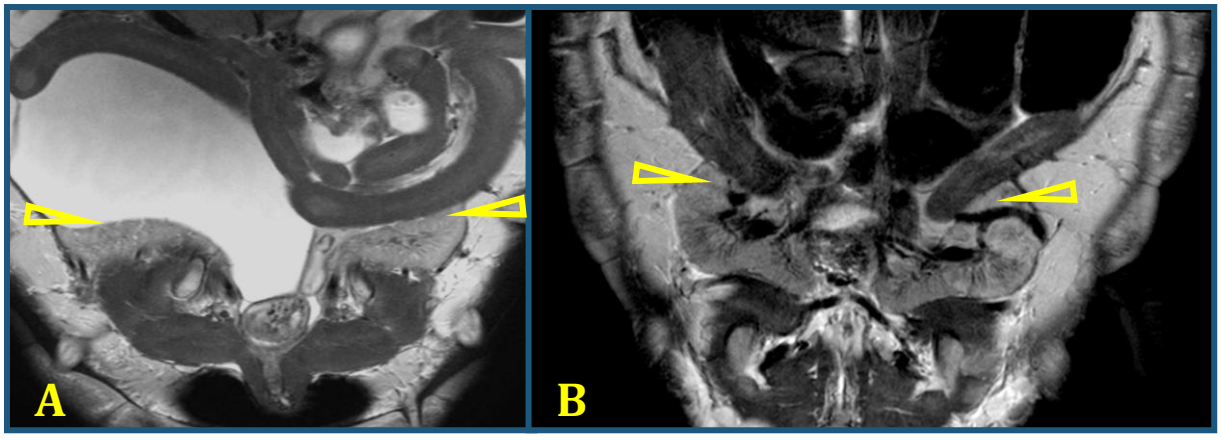


Figura 77: Imágenes coronales de RMN T2-weighted y T1-weighted sin contraste mostrando la anatomía interna de la región celómica caudal en una tortuga sana (A) y una tortuga con lesiones renales 20 días después del evento descompresivo (B). En ambos casos las flechas apuntan al parénquima renal. En la imagen B se observa una mayor heterogeneidad del parénquima con regiones más hiperintensas potencialmente asociadas a zonas dañadas por la isquemia (flecha solida).

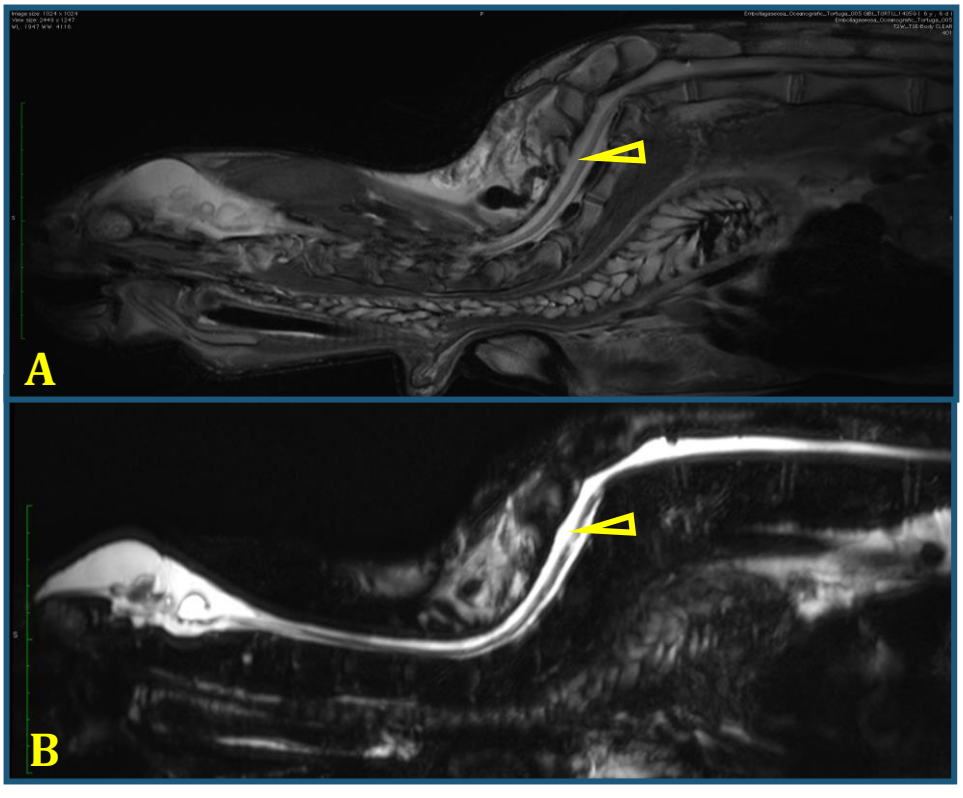


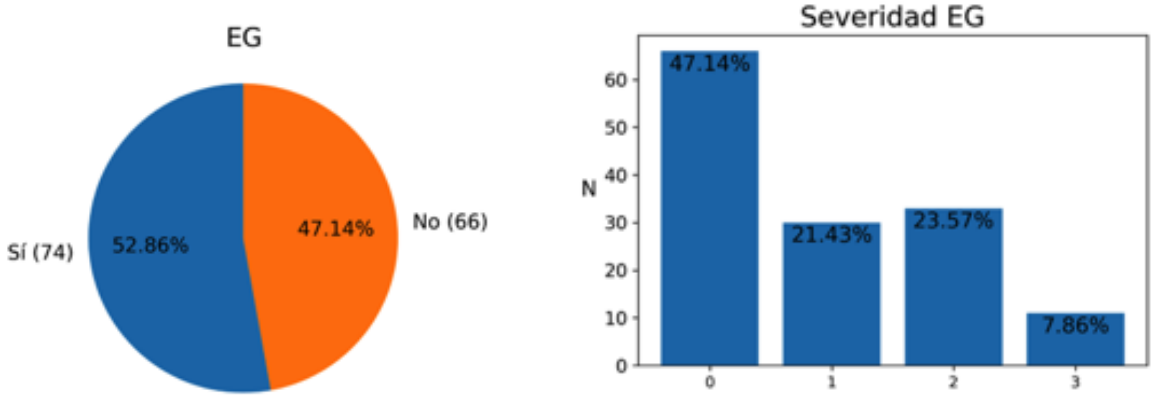
Figura 78: Imágenes mielográficas sagitales de RMN en T1 y T2-weighted myelography mostrando una zona de lesión a nivel de la médula espinal (flecha). El animal clínicamente mostraba una parálisis flácida y perdida de sensibilidad en la mitad posterior del cuerpo.

B – OTRAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS COMPLEMENTARIAS

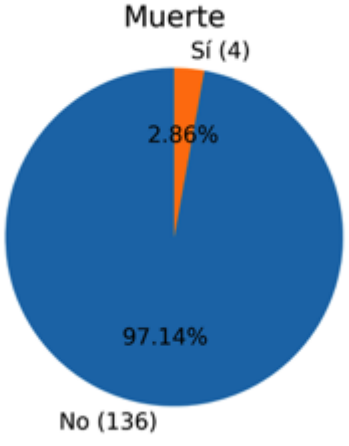
Además de las técnicas de imagen y el examen físico general, siempre que es posible a los animales que acceden al CR procedentes de pesquerías también se les realiza una analítica sanguínea completa incluyendo hematología y bioquímica. Una de las singularidades observadas en los animales con embolismo moderado o grave es que en la extracción la sangre en muchos casos se puede acompañar de gran cantidad de burbujas de gas claramente visibles en la jeringa (formando incluso una espuma) o incluso en los casos más severos se puede llegar a extraer únicamente gas ya que los senos cervicales dorsales pueden llegar a estar completamente exangües y llenos de gas. En estos casos se pueden llegar a sacar varios mililitros de aire del compartimento intravascular antes de poder empezar a colectar sangre. La reorientación del animal elevando la parte posterior del cuerpo ligeramente puede facilitar el desplazamiento de sangre por gravedad con el fin de poder facilitar el muestreo.

Los cambios observados en la hematología y bioquímica sanguínea pueden ser el resultado de los efectos directos de la presencia de burbujas intravasculares con el consiguiente daño endotelial, de distorsión de los tejidos y de las obstrucciones y hemorragias. Los efectos secundarios incluyen daño endotelial, fuga capilar, extravasación de plasma, y hemoconcentración tal y como también se describen en medicina de buceo (Vann et al., 2011). En base a los estudios estadísticos realizados a partir de un set de muestras de sangre obtenidas (140 individuos procedentes de pesquerías muestreados en total en el momento de la llegada), los principales resultados fueron los siguientes:

La población objeto de estudio incluyó aproximadamente un 50% de animales afectados de EG, en los que fundamentalmente fueron mayoritarias las categorías de leve y moderado con solo un 7,86% de casos severos.



En cuanto a la mortalidad, gracias al tratamiento establecido, soló 4 ejemplares causaron baja. Este es un dato importante que considerar a la hora de sacar conclusiones sobre el valor predictivo de la paramétrica sanguínea en referencia a la mortalidad, ya que el tamaño muestral para este grupo fue muy limitado.



A continuación se incluye una tabla resumen de toda la paramétrica sanguínea obtenida en base a las 140 muestras analizadas en la población en su conjunto destacando el número de casos analizados para cada parámetro, la media, la desviación estándar, valores máximo y mínimo obtenidos y los cuartiles 25%, 50% (mediana) y 75%. :

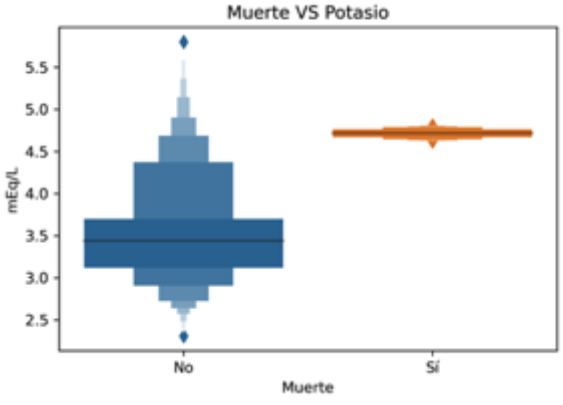
	count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
Hemoglobina (g/dl)	117	7,75	2,15	3,40	6,30	7,50	9,08	14,80
Hematocrito (%)	125	26,60	6,92	13,00	22,00	26,00	30,00	52,00
RBC (Mcels/µl)	47	0,41	0,57	0,01	0,25	0,33	0,36	3,50
WBC Manual (cels/µl)	98	3811,37	4065,20	1,52	11,76	3230,00	5733,25	21687,00
Heterófilos (%)	86	62,81	15,77	26,00	55,45	64,75	75,00	92,00
Linfocitos (%)	86	27,40	13,63	7,00	18,00	25,00	34,32	64,00
Monocitos (%)	65	3,00	3,59	0,00	1,00	2,00	3,50	17,60
Eosinófilos (%)	82	7,69	6,18	0,00	3,61	6,35	10,74	28,70
Glucosa (mg/dl)	88	186,21	62,41	72,00	137,70	178,95	224,32	382,10
BUN (mg/dl)	81	72,65	29,51	4,40	50,90	71,10	94,30	134,40
Creatinina (mg/dl)	81	0,24	0,23	0,00	0,16	0,21	0,26	2,08
Bilirrubina Total (mg/dl)	82	0,07	0,04	0,00	0,04	0,06	0,10	0,22
Bilirrubina Directa (mg/dl)	59	0,02	0,02	0,00	0,01	0,01	0,02	0,09
Colesterol (mg/dl)	87	121,19	64,80	3,60	78,35	113,00	151,30	351,20
Proteínas T refractom (g/dl)	112	3,83	1,01	2,00	3,00	3,80	4,43	7,60
Proteínas T colorimet (g/dl)	83	3,94	1,04	1,80	3,25	3,80	4,60	7,30
Albúmina (g/dl)	90	0,93	0,27	0,42	0,75	0,94	1,04	2,19
Fosfatasa Alcalina (U/l)	89	45,80	42,92	8,80	17,70	29,90	55,90	228,00
ALT (U/l)	84	4,95	9,29	-0,20	0,80	1,80	4,20	57,70
AST (U/l)	87	204,13	105,17	98,50	139,55	176,20	231,35	766,20
GGT (U/l)	20	0,30	0,46	0,00	0,00	0,10	0,38	1,30
CK (U/l)	79	1809,18	904,67	435,80	1200,75	1612,70	2357,45	5270,20
Lactato DH (U/l)	85	279,23	386,89	12,70	134,60	200,90	300,80	3374,10
Calcio (mg/dl)	83	7,23	2,68	4,50	5,75	6,50	7,50	19,90
Fósforo (mg/dl)	88	8,89	3,23	3,40	6,88	8,45	10,35	26,50
Ratio Ca/P	81	0,90	0,39	0,33	0,62	0,80	1,00	2,22
Sodio (mEq/l)	89	149,06	7,49	132,00	144,00	149,00	153,00	177,00
Potasio (mEq/l)	89	3,54	0,66	2,31	3,14	3,45	3,72	5,80
Cloro (mEq/l)	89	115,79	7,31	102,00	111,00	116,00	119,00	145,30
Hierro (µg/dl)	63	18,30	18,63	0,00	6,05	11,60	23,55	88,70
Ácido Úrico (mg/dl)	81	2,26	1,73	0,12	1,10	1,60	3,00	8,45
Triglicéridos (mg/dl)	84	94,15	186,12	8,40	34,40	59,05	93,80	1651,20

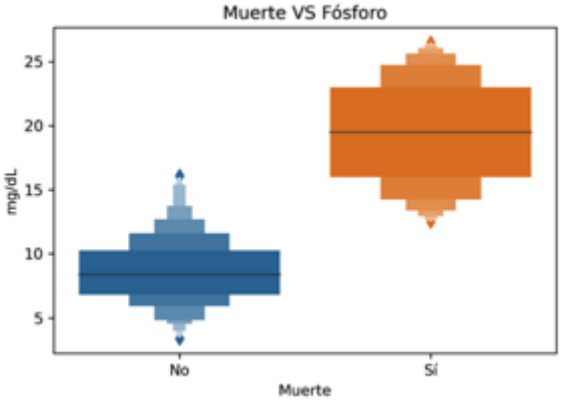
Tabla resumen con los valores de referencia agrupados en función de la mortalidad para valorar su nivel de asociación. En este caso se empleó el test no paramétrico de Mann-Whitney, ya que el análisis de normalidad indicó que estas variables no cumplen dicha condición.

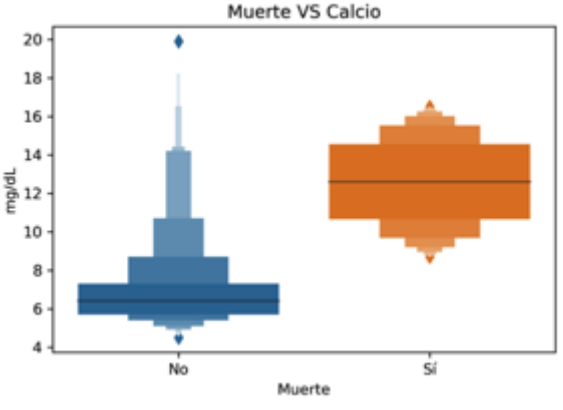
	Muerte Sí (n=4)			Muerte No (n=136)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Fósforo (mg/dl)	2	19.50	16.00 - 23.00	86	8.40	6.82 - 10.28	**0.027**
Potasio (mEq/l)	2	4.71	4.67 - 4.76	87	3.44	3.12 - 3.70	**0.034**
Calcio (mg/dl)	2	12.60	10.65 - 14.55	81	6.40	5.70 - 7.30	**0.040**
Hemoglobina (g/dl)	3	5.20	5.20 - 6.25	114	7.53	6.32 - 9.11	0.093
Triglicéridos (mg/dl)	2	103.65	95.68 - 111.62	82	58.95	34.40 - 93.05	0.146
Glucosa (mg/dl)	2	249.90	222.55 - 277.25	86	175.15	136.90 - 223.57	0.166
Creatinina (mg/dl)	1	0.34	0.34 - 0.34	80	0.21	0.16 - 0.26	0.170
Hematocrito (%)	3	21.00	19.00 - 24.00	122	26.00	22.25 - 30.00	0.193
Hierro (µg/dl)	2	26.00	21.35 - 30.65	61	11.10	5.90 - 23.40	0.203
Proteínas T colorimet (g/dl)	2	4.60	4.60 - 4.60	81	3.80	3.20 - 4.60	0.229
Sodio (mEq/l)	2	155.00	152.50 - 157.50	87	149.00	143.50 - 153.00	0.256
Ácido Úrico (mg/dl)	2	3.40	2.50 - 4.30	79	1.60	1.05 - 3.00	0.322
Proteínas T refractom	3	4.40	3.70 - 4.90	109	3.80	3.00 - 4.40	0.443
Colesterol (mg/dl)	2	89.00	71.30 - 106.70	85	113.00	82.30 - 151.30	0.506
WBC Manual	1	1687.00	1687.00 - 1687.00	97	3250.00	11.59 - 5811.00	0.621
Fosfatasa Alcalina (U/l)	2	41.20	33.85 - 48.55	87	29.90	17.45 - 56.00	0.648
ALT (U/l)	2	29.15	14.88 - 43.43	82	1.80	0.80 - 4.15	0.649
AST (U/l)	2	230.80	184.60 - 277.00	85	176.20	140.70 - 226.60	0.681
Ratio Ca/P	2	0.82	0.58 - 1.07	79	0.80	0.63 - 0.99	0.726
Albúmina (g/dl)	2	0.97	0.95 - 0.98	88	0.94	0.75 - 1.05	0.763
Lactato DH (U/l)	2	198.90	168.30 - 229.50	83	200.90	133.05 - 309.80	0.783
Bilirrubina Directa (mg/dl)	2	0.01	0.01 - 0.02	57	0.01	0.01 - 0.02	0.810
CK (U/l)	2	1503.95	1465.18 - 1542.72	77	1632.60	1180.90 - 2467.90	0.839
BUN (mg/dl)	2	76.15	72.83 - 79.47	79	71.10	48.65 - 94.40	0.843
Bilirrubina Total (mg/dl)	2	0.07	0.05 - 0.08	80	0.06	0.04 - 0.10	0.952
Cloro (mEq/l)	2	114.50	110.75 - 118.25	87	116.00	111.00 - 119.00	0.967

Para el caso de la mortalidad, vemos que los parámetros que mostrarían diferencias significativas entre los que viven y los que mueren fueron el fósforo, el potasio y el calcio (todos con una $p<0,05$). La hemoglobina sin embargo, aunque mantiene un valor p bajo, sobrepasa el límite establecido de

significatividad. Destacar en cualquier caso una vez más el tamaño muestral tan limitado de los casos que mueren, aunque ciertamente los valores analíticos de estos 3 parámetros son muy dispares entre los ejemplares que mueren y los que sobreviven (no existe ni siquiera solapamiento entre los rangos intercuartiles).







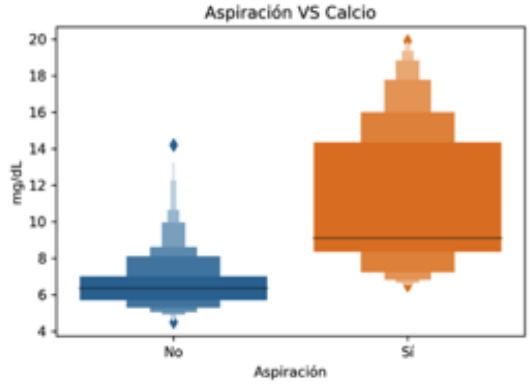
Sí es destacable que 3 de los animales que mueren presentaron asociación de aspiración de agua de mar con embolismo moderado mientras que el cuarto presentó únicamente embolismo severo. Así, la alteración analítica asociada a la mortalidad podría venir desencadenada tanto por el propio embolismo como por la aspiración. En este sentido, hemos querido ver la influencia de ambos aspectos por separado.

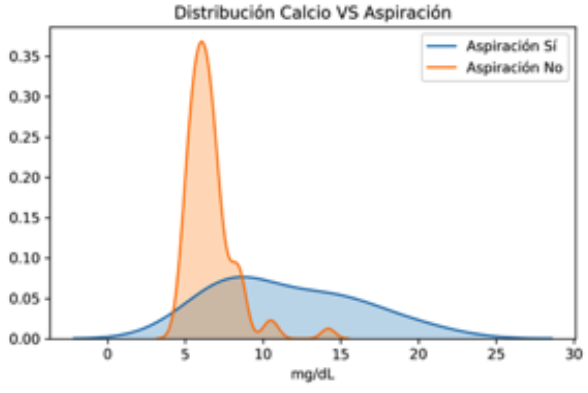
Tabla resumen con los valores de referencia agrupados en función de la aspiración de agua para valorar su nivel de asociación empleando el test no paramétrico de Mann-Whitney, ya que el análisis de normalidad indicó que estas variables no cumplen dicha condición.

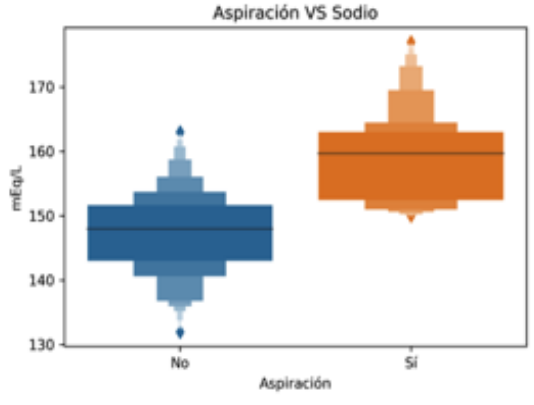
	Aspiración Sí (n=15)			Aspiración No (n=125)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Calcio (mg/dl)	11	9.10	8.35 - 14.35	72	6.35	5.70 - 7.00	**< 0.001**
Sodio (mEq/l)	11	159.70	152.50 - 163.00	78	148.00	143.00 - 151.65	**< 0.001**
Ácido Úrico (mg/dl)	10	5.10	2.72 - 5.22	71	1.41	0.95 - 2.70	**< 0.001**
Hierro (µg/dl)	10	27.90	19.30 - 50.83	53	8.90	5.80 - 17.30	**0.001**
AST (U/l)	10	265.35	243.60 - 314.88	77	168.70	136.20 - 209.30	**0.001**
Potasio (mEq/l)	11	4.10	3.70 - 4.61	78	3.40	3.04 - 3.59	**0.003**
Fósforo (mg/dl)	10	11.75	10.05 - 12.50	78	8.30	6.73 - 9.80	**0.006**
Fosfatasa Alcalina	10	62.65	34.60 - 114.50	79	27.10	16.70 - 47.60	**0.007**
Colesterol (mg/dl)	10	67.50	55.12 - 98.55	77	119.30	83.70 - 154.00	**0.011**
Cloro (mEq/l)	11	128.10	115.10 - 130.00	78	115.90	111.00 - 118.78	**0.012**
ALT (U/l)	11	5.60	1.80 - 16.80	73	1.70	0.70 - 3.20	**0.013**
Glucosa (mg/dl)	11	252.50	178.35 - 295.20	77	173.50	135.60 - 217.80	**0.021**
GGT (U/l)	5	0.60	0.10 - 1.20	15	0.00	0.00 - 0.15	**0.024**
Lactato DH (U/l)	10	309.20	266.85 - 422.27	75	188.90	130.05 - 288.35	**0.025**
WBC Manual (cels/µl)	10	1468.50	6.08 - 2250.00	88	3467.50	12.33 - 5937.00	0.054
Proteínas T colorimet (g/dl)	10	3.45	3.30 - 3.68	73	3.90	3.20 - 4.70	0.088
CK (U/l)	10	1815.90	1650.70 - 2168.72	69	1462.20	1121.60 - 2467.90	0.100
Heterófilos (%)	7	51.39	41.30 - 67.50	79	65.00	56.50 - 75.00	0.162
Ratio Ca/P	10	0.99	0.71 - 1.29	71	0.78	0.61 - 0.98	0.189
Eosinófilos (%)	7	9.20	5.65 - 12.25	75	5.30	2.52 - 10.23	0.190
Monocitos (%)	7	3.42	1.15 - 10.26	58	1.95	1.00 - 3.36	0.255
BUN (mg/dl)	9	82.80	68.20 - 90.00	72	70.35	46.15 - 94.35	0.355
Creatinina (mg/dl)	9	0.23	0.20 - 0.26	72	0.21	0.16 - 0.26	0.370
Bilirrubina Total (mg/dl)	10	0.05	0.03 - 0.08	72	0.06	0.04 - 0.10	0.394
Proteínas T refractom (g/dl)	14	4.10	3.00 - 4.68	98	3.80	3.02 - 4.40	0.588
Albúmina (g/dl)	11	0.92	0.82 - 0.99	79	0.95	0.75 - 1.08	0.680
Linfocitos (%)	7	34.72	16.05 - 41.27	79	25.00	18.00 - 31.75	0.699
Hemoglobina (g/dl)	13	7.30	5.20 - 8.66	104	7.51	6.30 - 9.09	0.716
Hematocrito (%)	14	26.00	18.00 - 30.50	111	26.00	22.50 - 30.00	0.820
Triglicéridos (mg/dl)	10	45.15	43.12 - 101.38	74	60.35	34.40 - 90.72	0.830
Bilirrubina Directa (mg/dl)	8	0.01	0.01 - 0.02	51	0.01	0.01 - 0.02	0.963

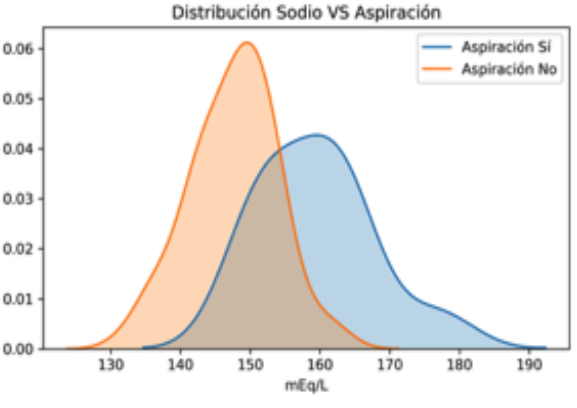
Para el caso de la aspiración y encharcamiento pulmonar con agua marina, son múltiples los desequilibrios que se producen. Los parámetros que mostrarían diferencias significativas con respecto al grupo de los no afectados (todos con una $p<0,05$) incluirían los 3 parámetros que vimos previamente que también se asociaban a la mortalidad (potasio, fósforo y calcio) pero además mostraron significatividad: el sodio, el ácido úrico, el hierro, la AST, la fosfatasa alcalina, el cloro, la ALT, la glucosa,

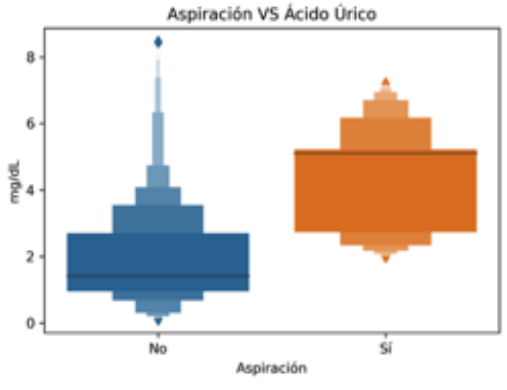
la GGT y la Lactato DH que tendieron a incrementarse y el colesterol que tendió a disminuir. Una posible reducción en el recuento total de glóbulos blancos (WBC) también se quedó en el límite de la significatividad (p = 0,054). Destacar que, para el caso de la aspiración, el tamaño muestral del grupo de individuos afectados sí fue mayor al grupo de animales que terminaron muriendo, lo que quizá también puede contribuir a hallar significatividad en un mayor número de parámetros. A continuación, se incluyen los diagramas de cajas y los gráficos de distribución en base a la ocurrencia de aspiración para cada uno de los parámetros que mostraron diferencias significativas:

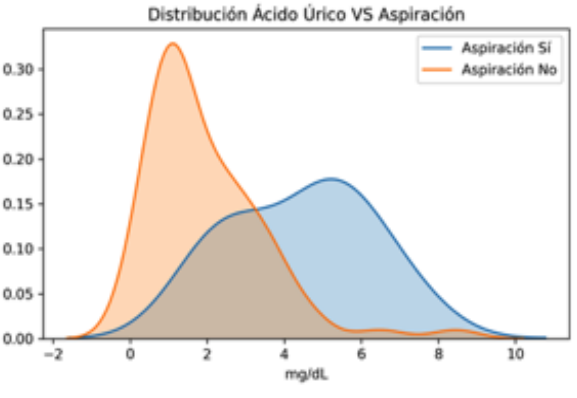


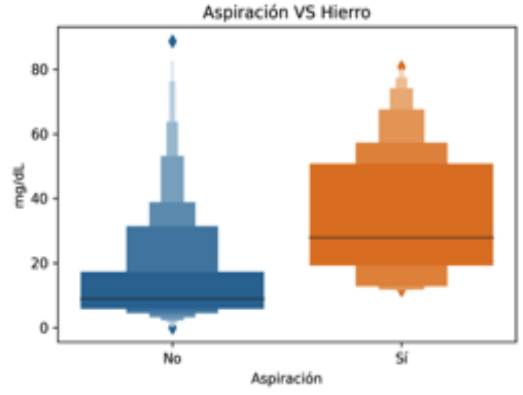


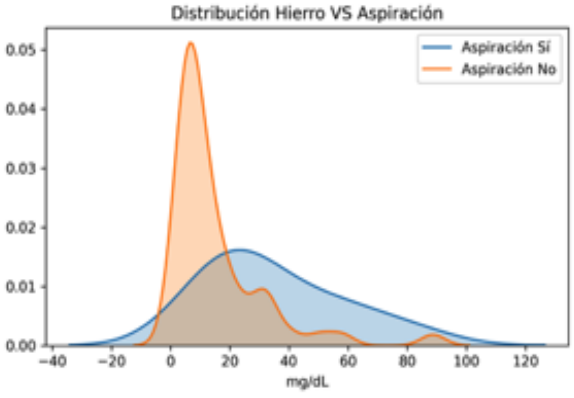


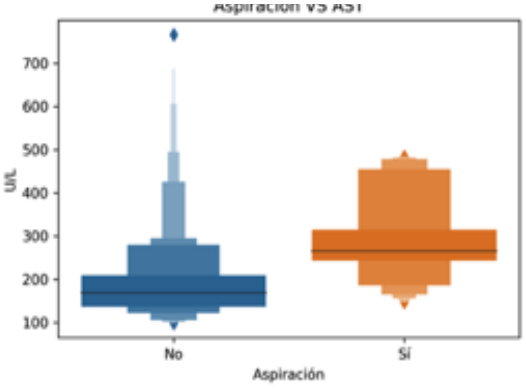


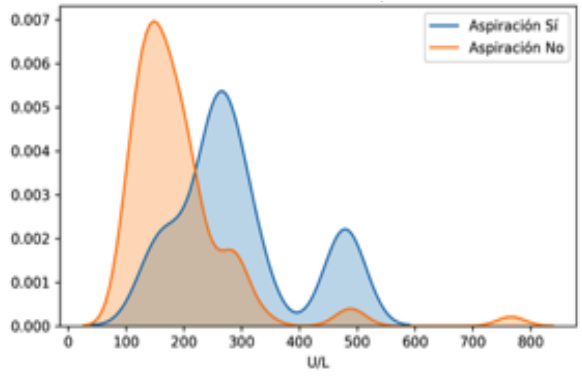


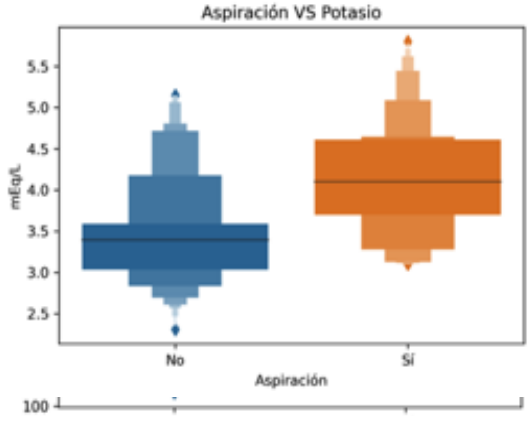


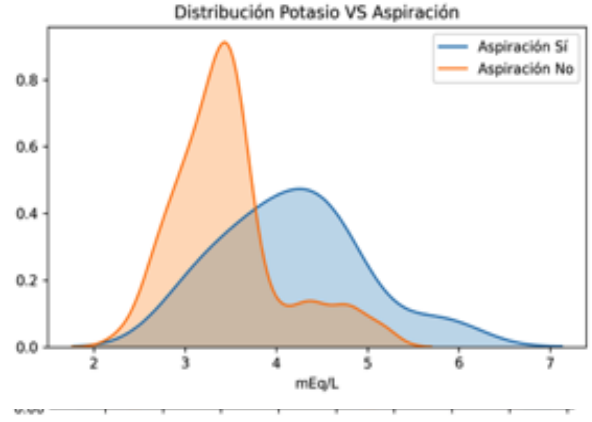

Aspiración VS Hierro
mg/dL
No
Sí
Aspiración

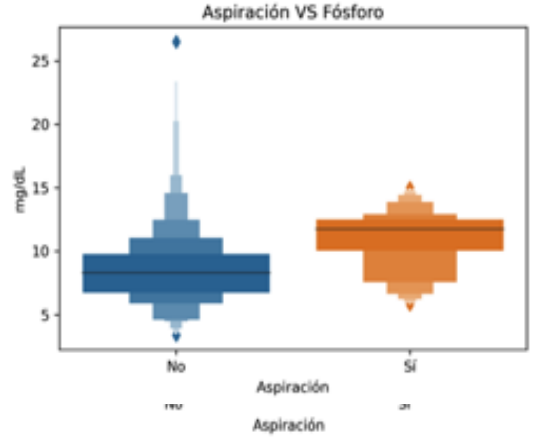

Distribución Hierro VS Aspiración
Aspiración Sí
Aspiración No
mg/dL

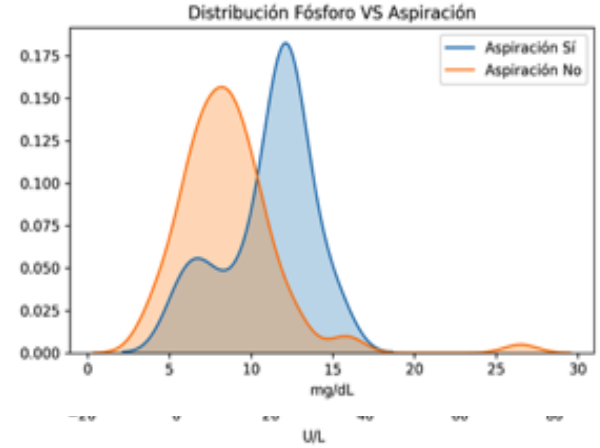

U/L
No
Sí
Aspiración

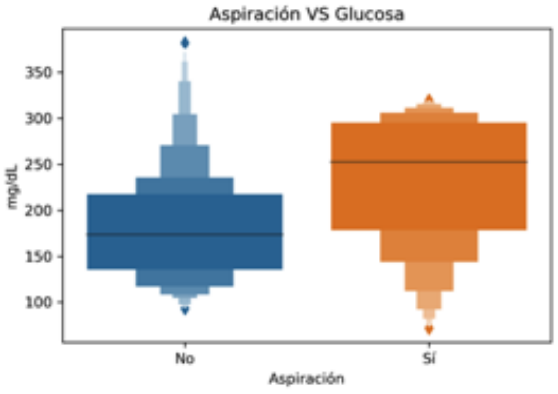

Aspiración Sí
Aspiración No
U/L

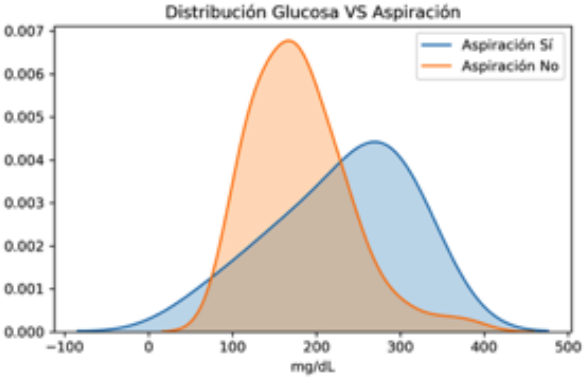

Aspiración VS Potasio
mEq/L
No
Sí
Aspiración

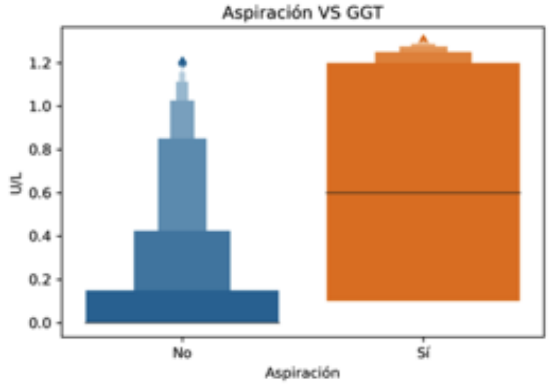

Distribución Potasio VS Aspiración
Aspiración Sí
Aspiración No
mEq/L

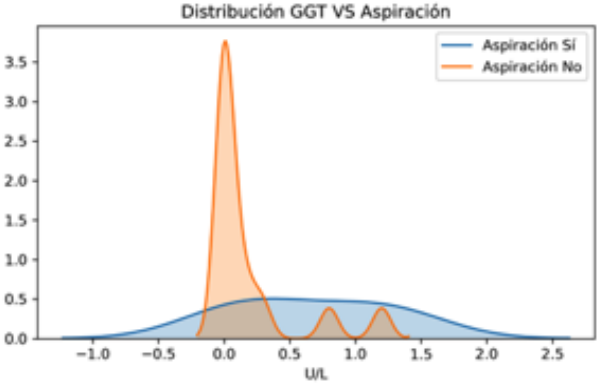

Aspiración VS Fósforo
mg/dL
No
Sí
Aspiración

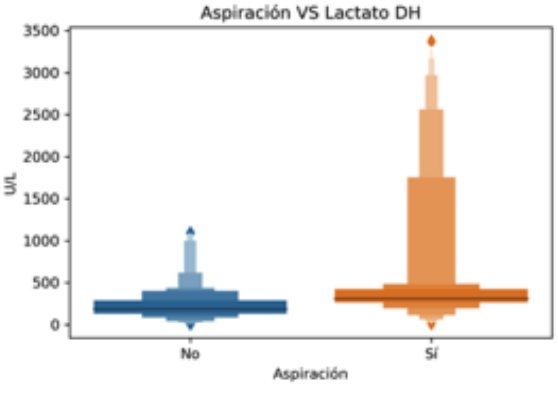

Distribución Fósforo VS Aspiración
Aspiración Sí
Aspiración No
mg/dL


Aspiración VS Glucosa
mg/dL
350
300
250
200
150
100
No
Sí
Aspiración


Distribución Glucosa VS Aspiración
Aspiración Sí
Aspiración No
0.007
0.006
0.005
0.004
0.003
0.002
0.001
0.000
−100
0
100
200
300
400
500
mg/dL


Aspiración VS GGT
U/L
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
No
Sí
Aspiración


Distribución GGT VS Aspiración
Aspiración Sí
Aspiración No
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
−1.0
−0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
U/L


Aspiración VS Lactato DH
U/L
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
No
Sí
Aspiración

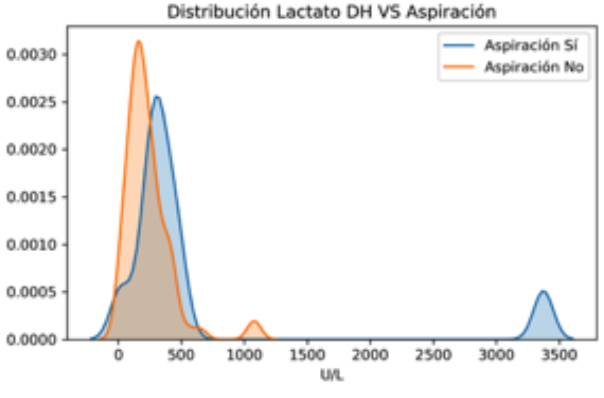
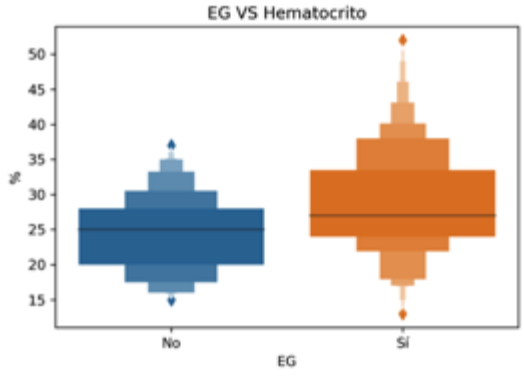

Distribución Lactato DH VS Aspiración
Aspiración Sí
Aspiración No
0.0030
0.0025
0.0020
0.0015
0.0010
0.0005
0.0000
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
U/L

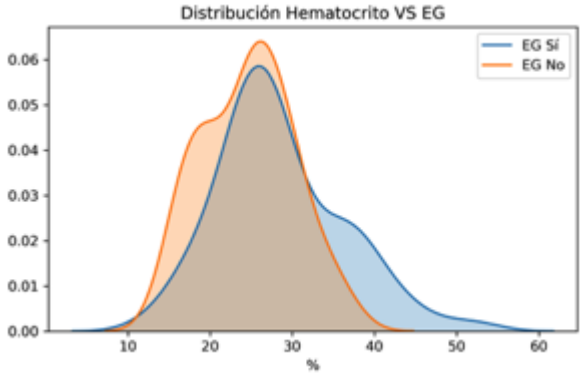
Tabla resumen con los valores de referencia agrupados en función de la presencia de EG para valorar su nivel de asociación en base al test de Mann-Whitney.

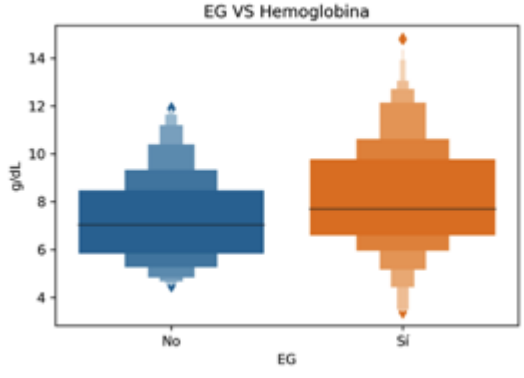
	EG Sí (n=74)			EG No (n=66)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Hematocrito (%)	64	27.00	24.00 - 33.50	61	25.00	20.00 - 28.00	**0.007**
Proteínas T refractom (g/dl)	55	4.00	3.30 - 4.80	57	3.30	3.00 - 4.20	**0.012**
Hemoglobina (g/dl)	63	7.70	6.60 - 9.79	54	7.04	5.83 - 8.47	**0.017**
Fosfatasa Alcalina (U/l)	51	24.50	16.70 - 40.20	38	37.15	22.65 - 60.40	0.059
Eosinófilos (%)	34	4.88	2.00 - 8.70	48	7.59	4.00 - 12.12	0.074
Triglicéridos (mg/dl)	47	75.10	33.35 - 103.30	37	46.50	34.40 - 69.80	0.083
Colesterol (mg/dl)	50	121.70	83.70 - 154.75	37	98.90	73.10 - 141.70	0.148
Hierro (µg/dl)	41	13.20	6.80 - 24.10	22	9.10	4.75 - 13.72	0.166
Ratio Ca/P	47	0.86	0.67 - 1.06	34	0.76	0.57 - 0.91	0.170
Proteínas T colorimet (g/dl)	50	4.00	3.30 - 4.70	33	3.80	3.20 - 4.30	0.178
Bilirrubina Total (mg/dl)	49	0.07	0.04 - 0.10	33	0.06	0.02 - 0.08	0.200
Creatinina (mg/dl)	48	0.21	0.15 - 0.25	33	0.21	0.18 - 0.27	0.211
Lactato DH (U/l)	48	191.95	122.05 - 294.27	37	214.30	159.30 - 354.80	0.226
Ácido Úrico (mg/dl)	49	2.00	1.10 - 3.69	32	1.35	0.90 - 2.75	0.264
Calcio (mg/dl)	48	6.65	5.80 - 8.03	35	6.40	5.70 - 6.75	0.295
RBC (Mcels/µl)	20	0.34	0.29 - 0.36	27	0.31	0.24 - 0.35	0.301
AST (U/l)	50	164.75	138.98 - 233.57	37	191.30	144.80 - 226.60	0.381
BUN (mg/dl)	47	69.20	40.65 - 93.90	34	72.55	54.57 - 94.20	0.386
CK (U/l)	45	1581.50	1180.90 - 2016.30	34	1806.90	1233.40 - 2477.90	0.428
Potasio (mEq/l)	51	3.39	3.10 - 3.71	38	3.49	3.14 - 3.75	0.445
Cloro (mEq/l)	51	116.00	111.00 - 119.00	38	116.20	112.00 - 119.00	0.462
Linfocitos (%)	38	25.00	18.25 - 35.92	48	24.50	17.88 - 30.75	0.508
Bilirrubina Directa (mg/dl)	37	0.01	0.01 - 0.02	22	0.01	0.01 - 0.02	0.636
Glucosa (mg/dl)	52	182.65	134.78 - 233.25	36	171.90	154.27 - 202.68	0.706
GGT (U/l)	13	0.10	0.00 - 0.30	7	0.00	0.00 - 0.40	0.707
Heterófilos (%)	38	66.00	53.25 - 77.75	48	63.10	56.75 - 71.50	0.715
Monocitos (%)	26	2.00	0.12 - 3.88	39	1.60	1.00 - 3.45	0.721
Sodio (mEq/l)	51	149.00	143.00 - 153.80	38	149.00	146.00 - 151.65	0.829
WBC Manual (cels/µl)	46	3062.50	12.66 - 5843.75	52	3230.00	10.73 - 5577.75	0.932
Fósforo (mg/dl)	51	8.40	6.60 - 10.40	37	8.60	7.10 - 10.30	0.949
ALT (U/l)	47	1.80	0.65 - 5.35	37	1.80	0.80 - 3.20	0.996
Albúmina (g/dl)	52	0.95	0.75 - 1.03	38	0.93	0.75 - 1.08	0.997

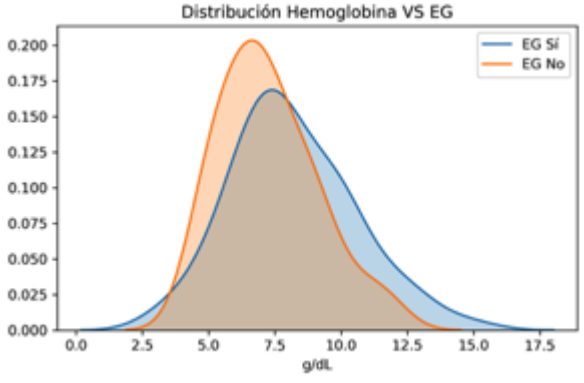
En referencia a su asociación con el padecimiento de EG, los parámetros en los que hubo diferencias significativas entre los grupos fueron el hematocrito, las proteínas totales medidas por refractometría (sólidos totales) y la hemoglobina.

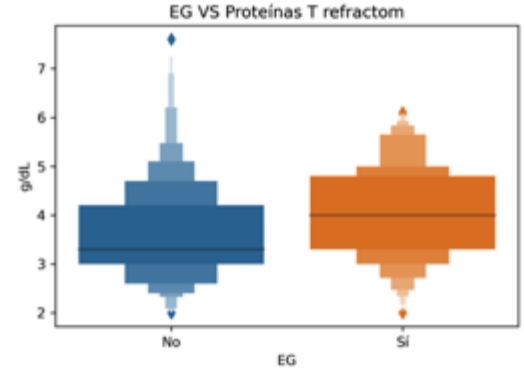
En las gráficas correspondientes se observa con claridad la diferente distribución que presentan estas variables cuando se comparan las poblaciones de tortugas libres de enfermedad y afectadas por EG.

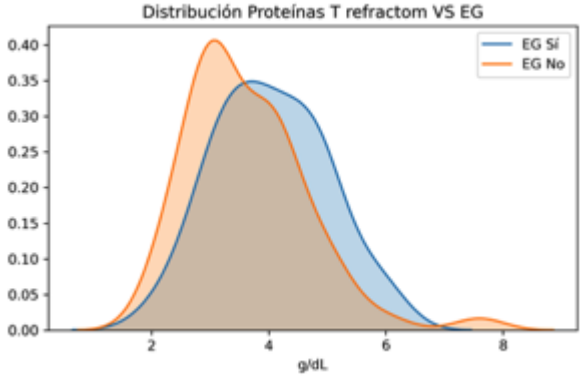












Para determinar qué parámetros sanguíneos presentaban diferencias según la severidad de EG, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, debido a la condición de no normalidad de dichas variables. En este caso, los únicos dos parámetros estudiados que mostraron diferencias significativas fueron el hematocrito y la hemoglobina tal y como se desprende de la siguiente tabla:

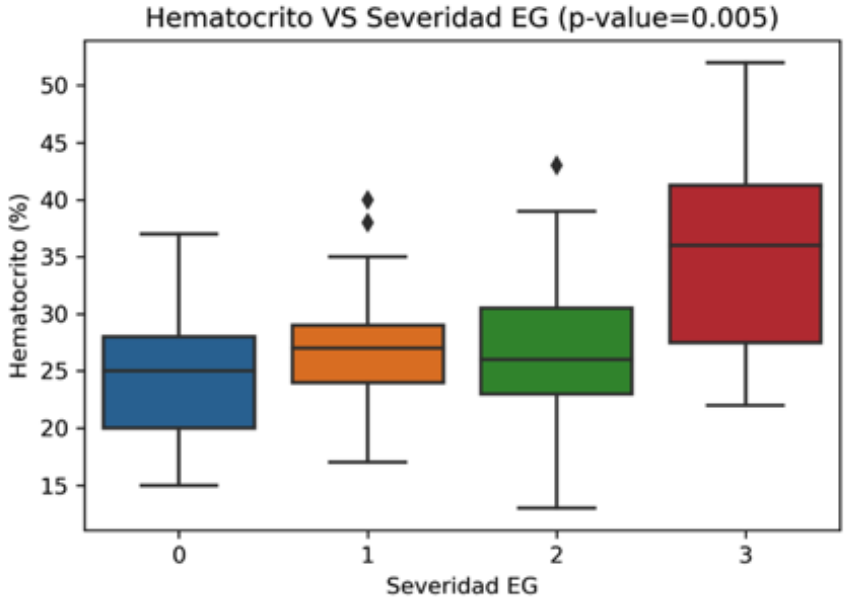
	p_value
Hematocrito (%)	**0.005**
Hemoglobina (g/dl)	**0.007**
Proteínas T refractom (g/dl)	0.076
Fosfatasa Alkalina (U/l)	0.089
Hierro (µg/dl)	0.116
Proteínas T colorimet (g/dl)	0.240
Triglicéridos (mg/dl)	0.283
Eosinófilos (%)	0.295
CK (U/l)	0.306
Sodio (mEq/l)	0.373
Lactato DH (U/l)	0.416
BUN (mg/dl)	0.418
Colesterol (mg/dl)	0.498
Bilirrubina Total (mg/dl)	0.528
Bilirrubina Directa (mg/dl)	0.529
Cloro (mEq/l)	0.533
Linfocitos (%)	0.546
Ratio Ca/P	0.553
Heterófilos (%)	0.568
AST (U/l)	0.578
Ácido Úrico (mg/dl)	0.628
Monocitos (%)	0.659
Creatinina (mg/dl)	0.663
WBC Manual (cels/µl)	0.703
Calcio (mg/dl)	0.740
RBC (Mcels/µl)	0.773
Albúmina (g/dl)	0.798
ALT (U/l)	0.803
Potasio (mEq/l)	0.860
Glucosa (mg/dl)	0.936
GGT (U/l)	0.980
Fósforo (mg/dl)	0.995

El análisis post hoc de las variables significativas se determinó que las diferencias se encuentran únicamente entre los grupos 0-3 tanto para el hematocrito (p-valor 0.0088) como para la hemoglobina (p 0.0143). Esto implica que los principales problemas de hemoconcentración se asociarían fundamentalmente a los casos de embolismo severo, mientras que en los casos de embolismo leve o moderado, no se observarían modificaciones significativas en la paramétrica

sanguínea con respecto a animales procedentes de pesquerías pero sin afectación. Estas diferencias se pueden observar con mayor claridad en los correspondientes diagramas de cajas.

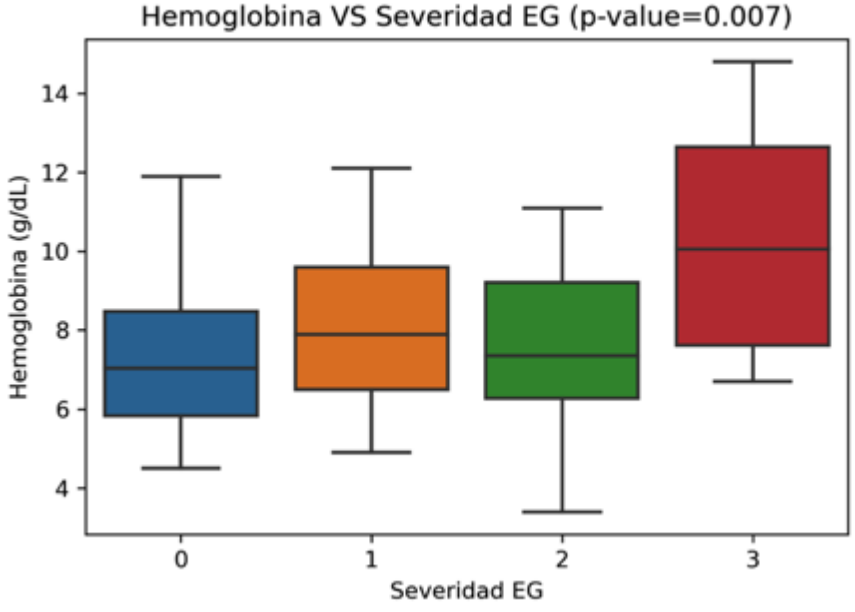
Análisis post hoc (p-value entre distintos grupos)

Hematocrito	0	1	2	3
0	1	0.5131	0.4835	0.0088
1	0.5131	1	0.9998	0.2232
2	0.4835	0.9998	1	0.1675
3	**0.0088**	0.2232	0.1675	1

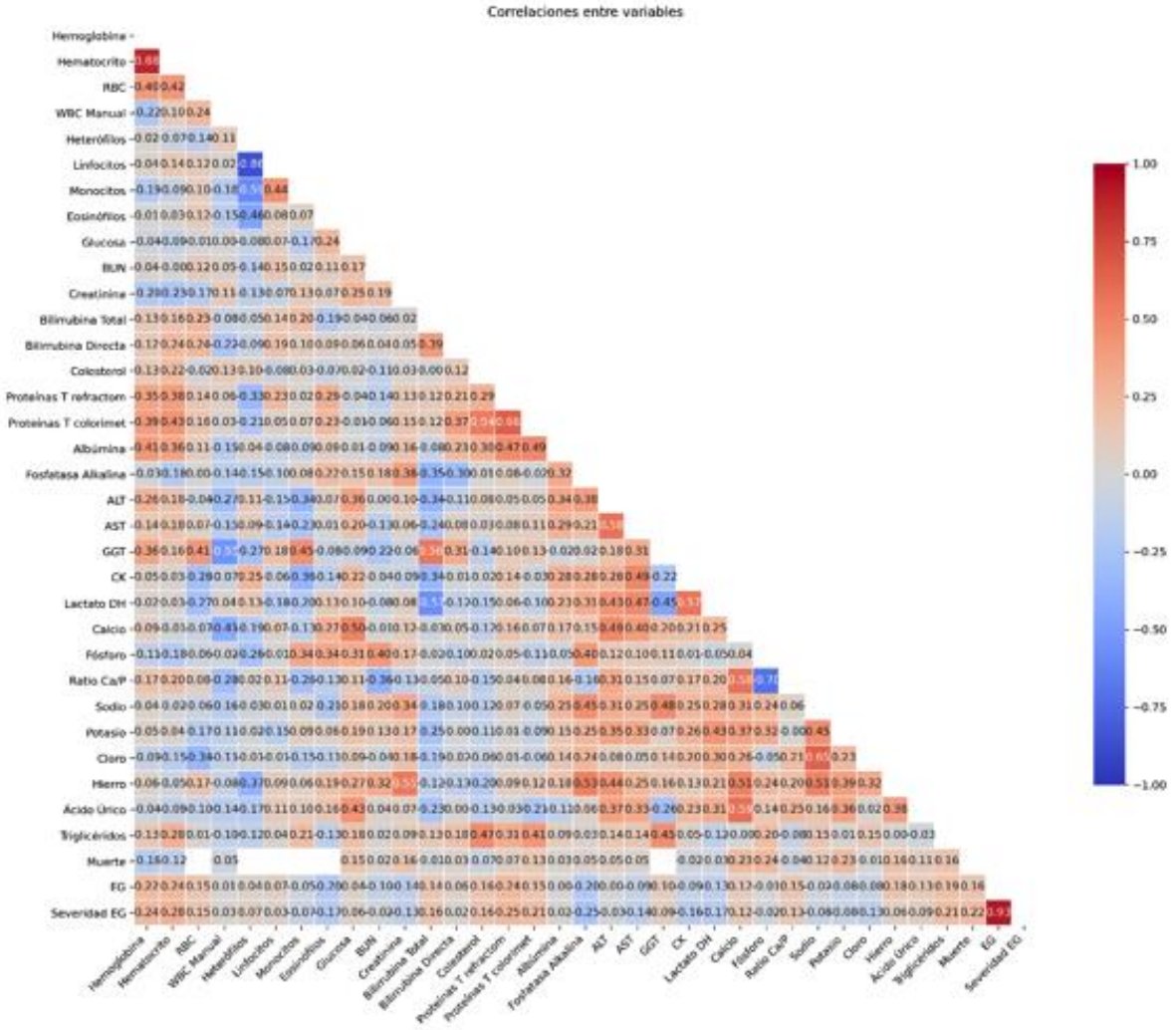


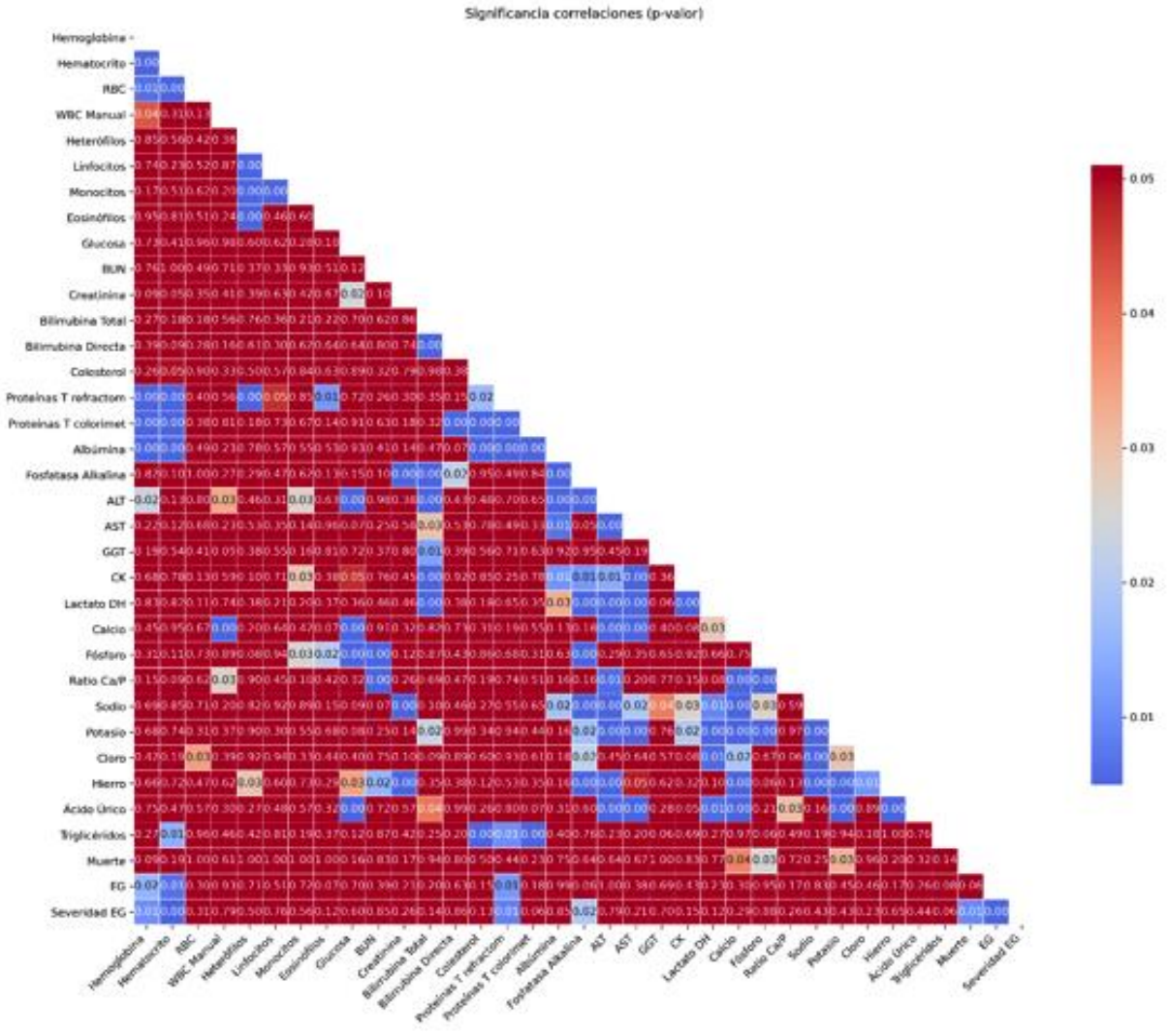
Análisis post hoc (p-value entre distintos grupos)

Hemoglobina	0	1	2	3
0	1	0.2997	0.8877	0.0143
1	0.2997	1	0.7975	0.3803
2	0.8877	0.7975	1	0.0929
3	**0.0143**	0.3803	0.0929	1



Para determinar la posible correlación de las distintas variables entre sí, se calculó el coeficiente rho de Spearman, así como el p-valor asociado a cada coeficiente, generando mapas de calor que permitiesen valorar rápidamente la asociación entre parámetros.


Correlaciones entre variables
Hemoglobina
Hematocrito
RBC
WBC Manual
Heterófilos
Linfocitos
Monocitos
Eosinófilos
Glucosa
BUN
Creatinina
Bilirrubina Total
Bilirrubina Directa
Colesterol
Proteínas T refractom
Proteínas T colorimet
Albúmina
Fosfatasa Alkalina
ALT
AST
GGT
CK
Lactato DH
Calcio
Fósforo
Ratio Ca/P
Sodio
Potasio
Cloro
Hierro
Ácido Úrico
Triglicéridos
Muerte
EG
Severidad EG
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
−0.25
−0.50
−0.75
−1.00



El aumento de la hemoglobina, el hematocrito y los sólidos totales se corresponde generalmente con un fenómeno de hemoconcentración que efectivamente también se describe en los casos de DCS en humana asociados a un proceso de extravasación de suero/plasma sanguíneo. Destacar que en el caso de su asociación con la supervivencia, la variación en la concentración de hemoglobina también quedó cerca de la significatividad pero, en ese caso y a diferencia del EG, la hemoglobina fue más baja en el grupo de los animales que no sobrevivieron. La explicación a los incrementos en hematocrito y hemoglobina en los casos más severos de EG se puede justificar por el incremento de la permeabilidad

de la pared vascular, la sobre expansión del sistema vascular por el gas y el fallo circulatorio severo y muy especialmente del retorno venoso llevando a una extravasación de fluidos desde el compartimento intravascular al extravascular y por tanto a una hemoconcentración (Levett and Millar, 2008; Vann et al., 2011). Estos hallazgos van también en la línea de los hallazgos de necropsias que describíamos en el capítulo anterior y que detallaremos a continuación, con la presencia de efusión celómica en los casos más severos de enfermedad. Por otro lado, las observaciones en referencia al incremento del fosforo, el calcio y el potasio plasmáticos asociados con la mortalidad, podrían verse condicionados por la acidosis, la deshidratación, el fallo renal y el daño tisular generalizado que se producen en los casos de embolismo severo (Stacy and Innis, 2017). La hiperpotasemia se ha asociado previamente a situaciones de captura accidental pudiendo implicar fenómenos de miopatía de captura y pudiendo llevar a un posible fallo cardiaco (Innis et al., 2014). Los niveles de calcio elevados en tortugas generalmente también se asocian a procesos patológicos ya que generalmente las tortugas sanas a diferencia de otros grupos de vertebrados, mantienen niveles de calcio fisiológicamente bajos en sangre (Stacy and Innis, 2017). La hiperfosfatemia en tortugas también se puede asociar a enfermedad grave generalmente implicando un problema de fallo renal o déficit de perfusión del riñón, especialmente cuando se asocia a hiperuricemia, hiperpotasemia o hipernatremia (Stacy and Innis, 2017). Hemos de recordar de hecho que el riñón es uno de los principales órganos afectados por el EG, viéndose afectado por el acumulo de gas en su vasculatura desde las fases iniciales de la enfermedad y siendo una de las últimas regiones donde se eliminan las burbujas de nitrógeno. En algunos ejemplares afectados por el embolismo el ácido úrico también llega a alcanzar niveles elevados por encima de 5mg/dl lo que en tortugas se asocia a fenómenos de deshidratación y reducción en la funcionalidad renal (Anderson et al., 2011; Deem et al., 2009; Kennedy et al., 2012). De hecho, la limitada capacidad de filtración renal durante los periodos de EG y el posible fallo multiorgánico, podrían llevar a un incremento progresivo de los niveles de potasio en sangre (hiperpotasemia) comprometiendo aún más la función cardiovascular.

Independientemente del embolismo, la inmersión forzada asociada a la pesca accidental en algunos casos se asocia también a un notable desequilibrio de electrolitos (principalmente la hiponatremia e hiperpotasemia) en el momento del ingreso. Estos desequilibrios son especialmente relevantes en caso de aspiración concurrente de agua de mar, donde están descritos hipernatremia, hipercalcemia e hipermagnesemia (Parga et al., 2017; Stacy and Innis, 2017). En nuestro estudio hemos podido

evidenciar la alteración de muchos parámetros más asociados a este proceso, hasta un total de 14 incluyendo diversos electrolitos, metabolitos y enzimas.

En base a observaciones preliminares, hemos visto también que en algunos casos de EG moderado/severo, no son infrecuentes la elevación severa en plasma de creatin-kinasa (CK) y la elevación moderada de la lactato-deshidrogenasa (LDH) especialmente a lo largo de los días siguientes al tratamiento. Además, la respuesta inflamatoria con desviación a la izquierda es también frecuente en los supervivientes los siguientes días al ingreso, poniendo de manifiesto el componente inflamatorio asociado al daño tisular de este proceso. Sin embargo, es difícil discernir qué cambios corresponden exclusivamente a la presencia de EG frente a las demás patologías concomitantes que se solapan con la DCS como consecuencia de la inmersión forzada (incluyendo el ahogamiento con o sin aspiración de agua, hipoxia, acidosis, desequilibrio de electrolitos y miopatía de captura).

La prueba de espirometría, aunque no está comercialmente disponible para este tipo de animales, sí que se reveló a través de un estudio realizado por nuestro grupo, como una técnica experimental con potencial diagnostico tanto para diagnosticar la insuficiencia respiratoria de los animales afectados al ingreso como para evidenciar la adecuada respuesta al tratamiento hiperbárico (Portugues et al., 2018).

C – APORTACIONES CLÍNICAS AL DIAGNÓSTICO *POST MORTEM*

Una de las consideraciones más importantes de cara al diagnóstico *post mortem* es la de poder realizar un estudio radiológico de imagen previa con el fin de poder evaluar la presencia de gas intravascular y el grado de expansión pulmonar antes de proceder a la apertura del animal. Consideramos que al menos la radiografía DV se debería poder llevar a cabo en todos los casos posibles antes de la apertura del cadáver, siendo una técnica sencilla y que aporta mucha información. Esta técnica nos podrá indicar, además, donde debemos centrar nuestros esfuerzos para localizar el gas intravascular durante la necropsia.

La exploración externa antes de la necropsia también es importante como ya viéramos en el apartado de la exploración clínica de los animales que llegan vivos. Cuando no se conoce el origen de los animales, es importante identificar signos o lesiones característicos de la captura accidental por pesquerías como los que ya describimos en el apartado del diagnóstico clínico: heridas o marcas superficiales, signos de aspiración de agua de mar, etc. De estos casos, en el caso particular de los animales afectados por DCS, las tortugas en muchos casos desarrollan un rigor mortis con posturas "características", generalmente con retracciones o plegamiento de las aletas anteriores o posteriores por debajo del caparazón o plastrón (**Figura 79**). La cabeza en algunos casos se muestra retraída o incluso lateralizada. Estas observaciones que pueden aparecer según nuestras observaciones hasta en un 60% de los individuos con signos de descompresión severa, no suelen aparecer en otros casos de muerte por otras enfermedades o traumatismos, por lo que si consideramos podrían considerarse al menos como sugerentes de DCS. Señalar que estos hallazgos desaparecen tras la resolución del rigor mortis en los cadáveres.

Otro aspecto a tener en cuenta en los cadáveres antes de la necropsia es la generación de posibles artefactos como consecuencia del proceso de congelación. En muchos casos los buques que faenan en altamar y capturan tortugas que terminan muriendo, las congelan en las cámaras para su posterior entrega a los investigadores al llegar a puerto (esto es muy frecuente por ejemplo en pesquerías de USA).

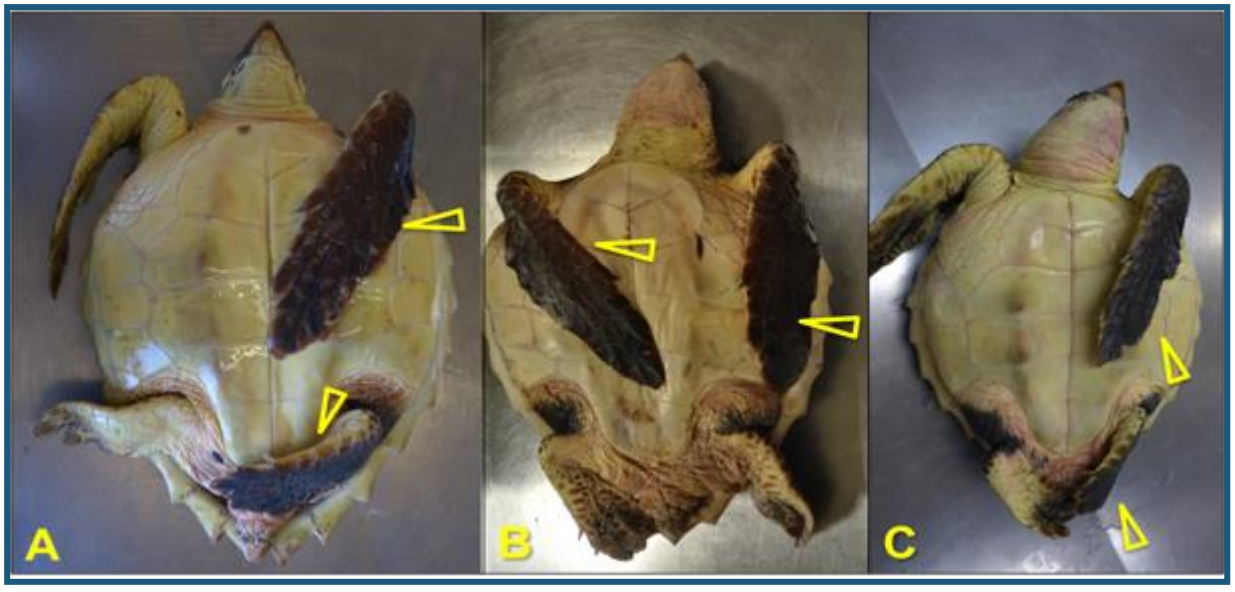


Figura 79: 3 ejemplares diferentes muertos tras recuperarse vivos del aparejo y desarrollar DCS con EG severo. Nótese la retracción de las aletas bajo el plastrón (flechas) y en A y C la retracción y lateralización de la cabeza respectivamente. En nuestra experiencia estos hallazgos no son observables en ninguna otra enfermedad.



Figura 80: Ejemplar de tortuga boba con signos evidentes de aspiración de agua de mar y DCS. Nótese la presencia de espuma y líquido saliendo por narinas y boca como consecuencia del edema pulmonar, así como la retracción de las aletas bajo el plastrón e inclinación del cuello durante el rigor mortis.

En otros casos, algunos centros de recuperación o investigación que trabajan con animales varados, no tienen la posibilidad de realizar las necropsias en fresco y congelan los cadáveres sistemáticamente para proceder a su estudio en el momento más conveniente porque en principio está establecido que la congelación no parece alterar demasiado los resultados en referencia a los estudios en fresco (Cook et al., 2020). En este sentido nosotros hemos podido evidenciar, que la congelación de los animales procedentes de pesca accidental sí puede incrementar de forma muy significativa en número y tamaño, los espacios de gas patológico en el cadáver

Figura 81; **Figura 82**), pudiendo llevar a un diagnóstico erróneo de un mayor grado de embolismo o incluso generando artefactos de gas intravascular en el cadáver que no existían antes de la congelación. Este fenómeno aún lo estamos investigando y caracterizando y está pendiente de una nueva publicación. Presumimos que el fenómeno detrás de este hallazgo se asocia al hecho físico de que cuando el agua se solidifica en hielo, expulsa todo el gas que contiene en disolución generando nuevas burbujas. Hemos podido evidenciar también que, tras la congelación, aunque dejemos descongelar totalmente al animal, los espacios de gas previamente generados se reducen en parte, pero en ningún caso se recuera la imagen original antes de la congelación. Así, con fines a un diagnóstico riguroso, es vital que los animales no se lleguen a congelar antes de la necropsia o en su caso, al menos realizar pruebas de imagen de forma preliminar para evaluar el gas presente originalmente sin artefactos.

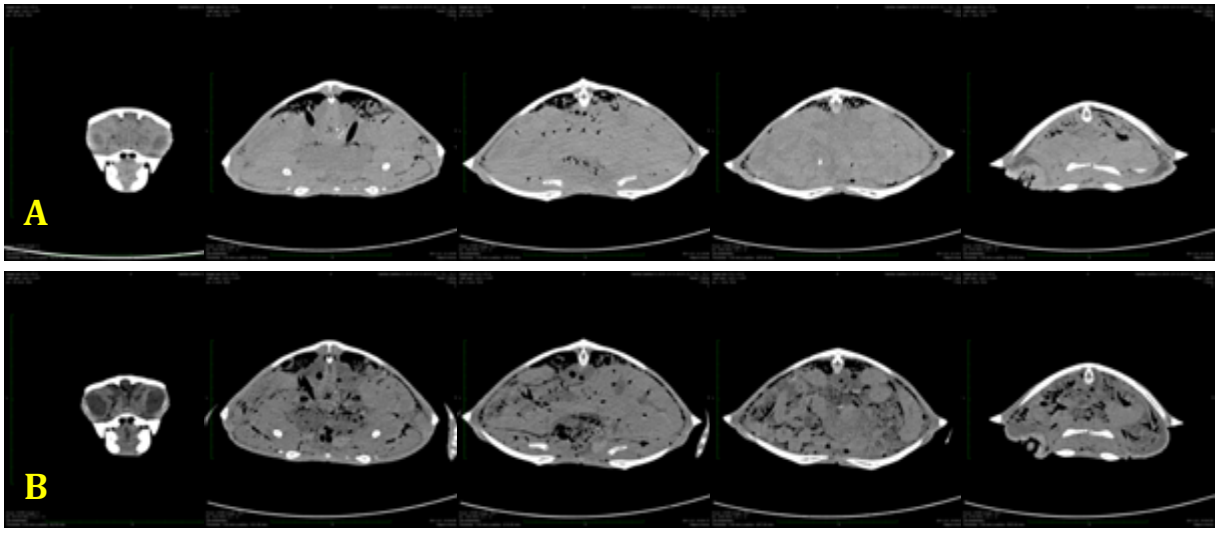


Figura 81: Artefacto generado como consecuencia de la congelación de los cadáveres. A Serie tomográfica de cabeza a cola con las imágenes más representativas correspondientes a un animal con embolismo leve-moderado. B. Los mismos cortes, del mismo animal y bajo los mismos parámetros de adquisición tras permanecer 48h en una cámara de congelación. Nótese el incremento muy significativo del gas intravascular y en los tejidos a lo largo de todas las secciones.

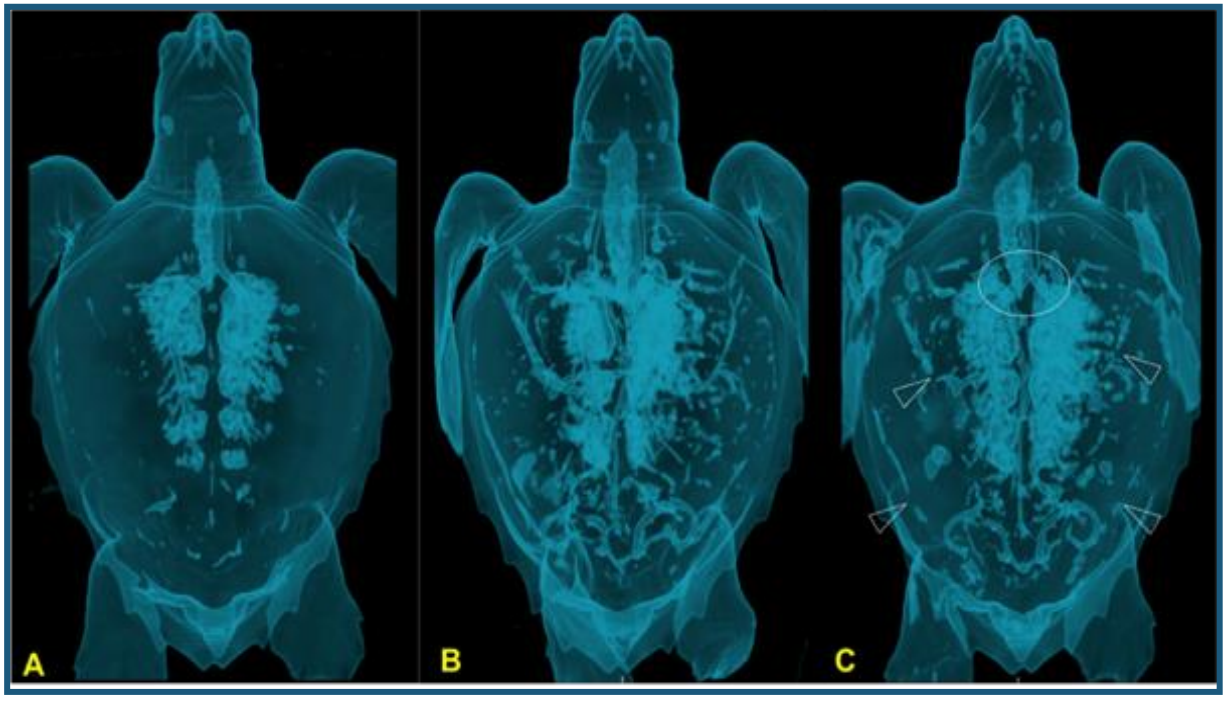


Figura 82: Vista dorsal de 3 reconstrucciones volumétricas en 3D mostrando las cavidades llenas de aire, correspondientes a una misma tortuga para mostrar el artefacto que se genera como consecuencia de la congelación de los cadáveres. A Animal con embolismo leve-moderado. B. Mismo animal congelado tras permanecer 48h en una cámara a -23ºC. C Mismo animal tras un proceso de descongelación. Nótese el incremento muy significativo del gas intravascular y en los tejidos. Con la descongelación (C), se produce cierta reabsorción del gas que salió de la solución durante la congelación en vasos (flechas) y corazón (elipse) pero en cualquier caso el artefacto de agravamiento de la severidad permanece.

Durante la necropsia es fundamental destacar como hiciéramos anteriormente la importancia de no generar artefactos asociados con la propia técnica durante el estudio del cadáver al seccionar vasos o traccionar de los tejidos induciendo la infiltración de aire atmosférico. Esto es especialmente relevante al retirar el plastrón (**Figura 83**).

En relación con el diagnóstico post mortem propiamente dicho, la mayoría de las lesiones macroscópicas típicamente observables ya se describieron en el capítulo anterior con la descripción inicial de la enfermedad. En cualquier caso, he generado un archivo fotográfico con las lesiones en órganos y sistemas más representativas de estos años asociadas a casos de descompresión.

Todos los animales objeto de estudio que terminaron muriendo (n=79) fueron sometidos a necropsia excepto en 3 casos que por motivos logísticos no se pudieron realizar.



Figura 83: Técnica de necropsia. Para la apertura del animal se debe primero retirar el plastrón con la mínima tracción posible antes de iniciar la sección de vasos con el fin de no producir artefactos por infiltración de aire.

Los 76 ejemplares estudiados incluyeron: 28 tortugas con EG grave (36,8%), 31 con EG moderado (40,8%), 13 con EG leve (17,1%) y 4 sin EG (5,3%). De estos 76 ejemplares un 42,1% (32 tortugas) mostraron además signos de aspiración por agua de mar. Los casos de embolismo leve (diagnosticados inicialmente mediante las técnicas de imagen), por regla general no fueron evidenciables fácilmente durante la necropsia. Buscando minuciosamente se podría llegar a encontrar alguna burbuja en atrio derecho, tronco mesentérico o incluso en vasos renales, pero fácilmente el gas intravascular puede llegar a pasar desapercibido. Sin embargo, el embolismo moderado y sobre todo en los casos severos, la presencia de gas fundamentalmente en cámaras cardiacas y grandes vasos llega a ser muy evidente en aproximadamente el 70% y 100% de los casos respectivamente. El gas a menudo formaba burbujas de gran tamaño (macroburbujas) que mantienen porciones de varios centímetros y en toda su sección de los vasos sin sangre, lo que presumiblemente llevaría asociado en vida un fenómeno obstructivo en la circulación. En los casos más extremos se llega a observar una importante distensión de las paredes atriales/vasculares y el gas desplaza por completo a la sangre del interior de los grandes vasos y las cámaras cardiacas (atrios y seno venoso). En estos casos, el gas puede ser también fácilmente evidenciable desde el primer momento en la vena abdominal media nada más retirar el plastrón (**Figura 84A y B**).

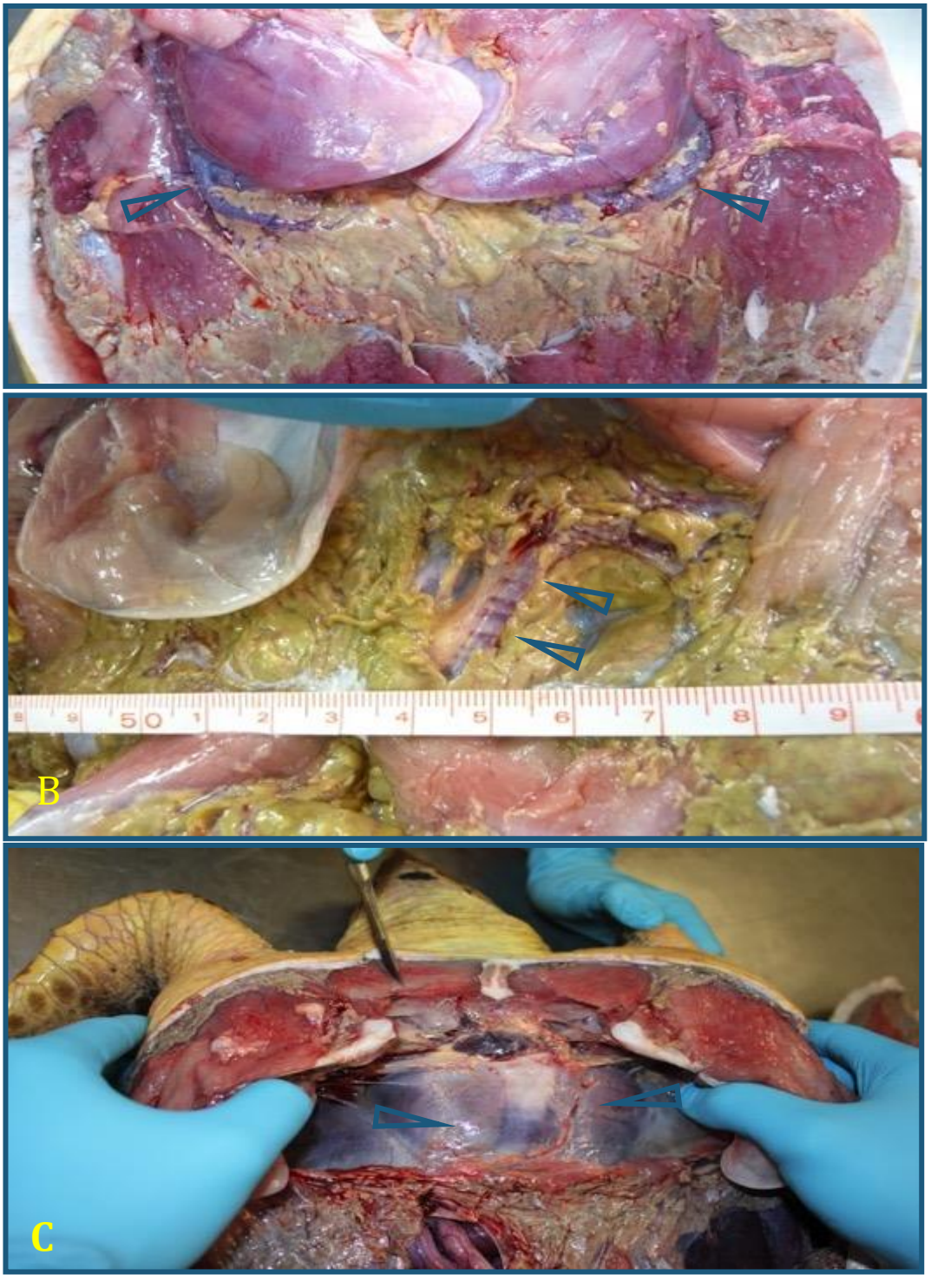


Figura 84: Casos severos. A. La presencia de gas en la vena abdominal media visible entre la grasa pericelómica es detectable en casos severos inmediatamente tras la retirada del plastrón. B. Detalle de las burbujas en el interior de la vena abdominal media (flechas). C Exposición del saco pericárdico antes de su apertura bajo la musculatura pectoral donde se puede intuir perfectamente la distensión por el gas de ambos atrios (flechas).

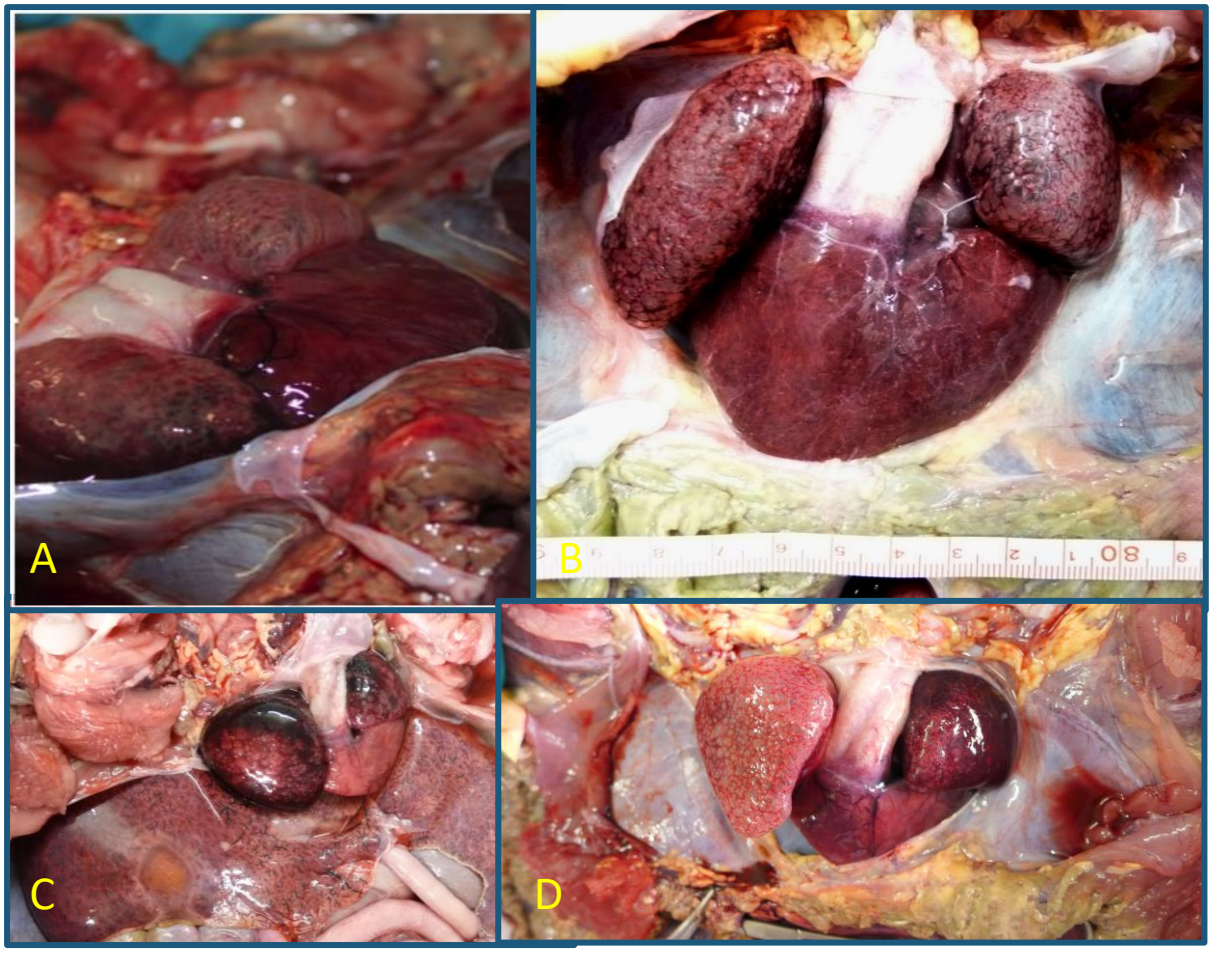


Figura 85: Vista ventral del corazón de 4 ejemplares con EG severo mostrando ambos atrios completamente distendidos por el gas. En C se puede observar como consecuencia del embolismo, la congestión de algunas sinusoides hepáticas en algunas regiones del órgano y la palidez como consecuencia de la isquemia en otras porciones del hígado. Aunque en casos severos se llegan a afectar los dos, por regla general el atrio derecho siempre suele verse afectado antes y en mayor gravedad que el izquierdo (C y D).

En algunos casos moderados, la presencia de gas no fue tan evidente y sólo se encontraron algunas burbujas de nitrógeno en seno venoso, atrio derecho, vasos mesentéricos, venas renales y en algunos grandes vasos intracelómicos como la post-cava. Los vasos hepáticos que normalmente sí se vieron afectados por el embolismo en pruebas de imagen, en muchos casos al ser intraparenquimatosos no son fácilmente evaluables a través de su pared para detectar la presencia de burbujas durante la necropsia. Algo similar sucede con los riñones al ser retrocelómicos y más inaccesibles no permitiendo una fácil exploración, y estando además recubiertos de la membrana celómica que es más opaca e impide la visualización directa como en el resto de los órganos intracelómicos. En cualquier caso, si se explora el cadáver minuciosamente y buscando el gas intravascular, más de un 90% de los casos

moderados confirmados mediante técnicas de imagen también llegan a ser diagnosticables en necropsia.

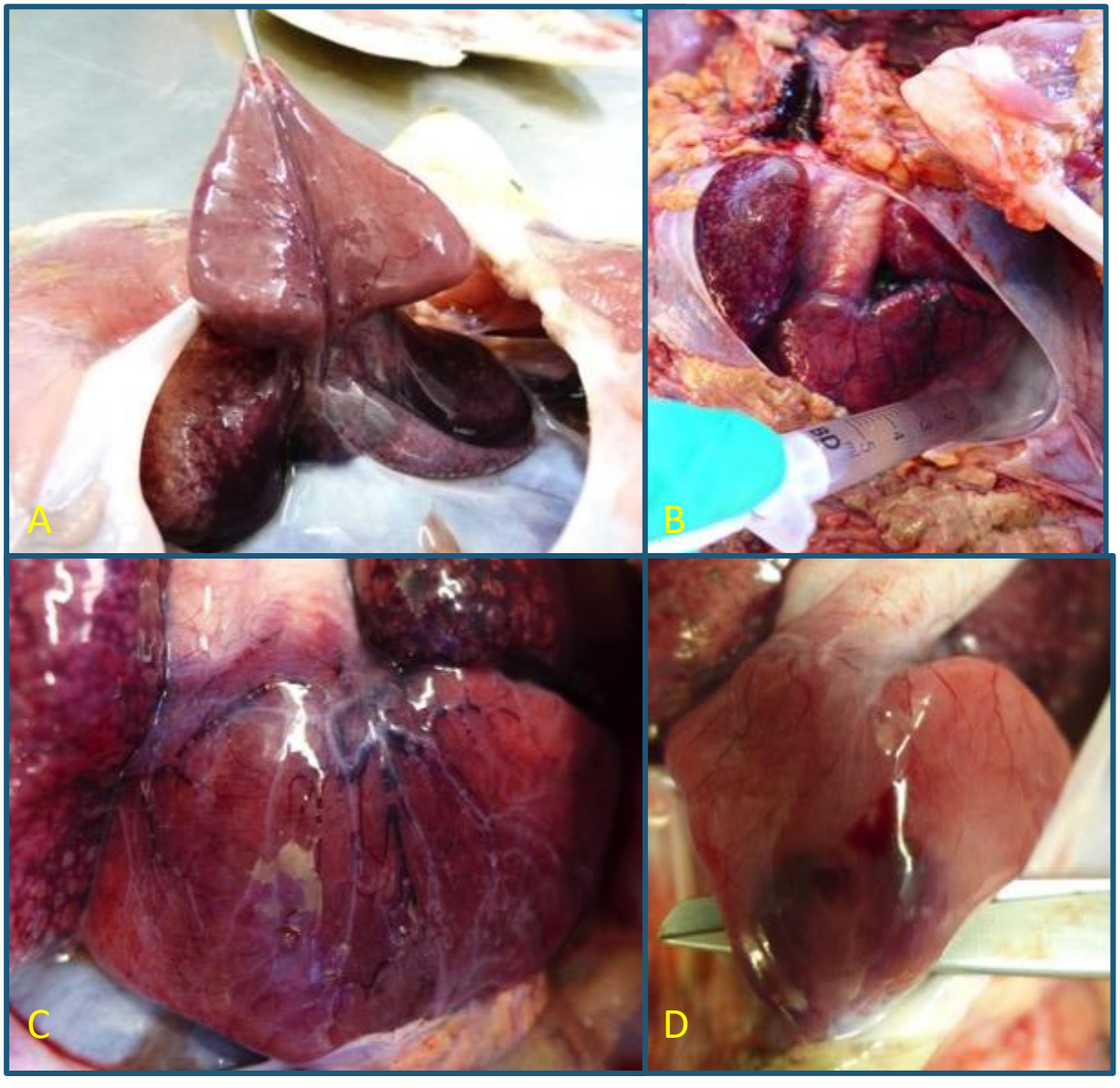


Figura 86: A. Vista dorsal del ventrículo tras reflejar el órgano ventralmente para exponer el seno venoso a la cámara, el cual se evidencia lleno de burbujas. El atrio derecho típicamente está más afectado por la presencia de gas que el izquierdo que también contiene algunas burbujas. Nótese la presencia de burbujas también en los vasos coronarios que recorren el ventrículo. B Distensión del atrio derecho y congestión de vasos coronarios. Toma de muestra de líquido del saco pericárdico. C Presencia de burbujas en vascularización coronaria. D Presencia de hemorragias sub-epicárdicas asociadas con un cuadro de EG severo.

Destacar que en casos de DCS en tortugas, tanto en las técnicas de imagen como en necropsia, las burbujas son observables tanto en el sistema venoso como en el arterial. Las venas, al tener una pared más fina y una mayor capacidad de distensión, permiten detectar el gas mucho más fácilmente a su través, pero el embolismo no es exclusivamente venoso, sino que también es patente en el circuito arterial al menos en los casos graves. Esta afectación arteriovenosa es fácilmente distinguible especialmente a nivel del tronco mesentérico que se suele ver afectado en prácticamente todos los casos de embolismo.

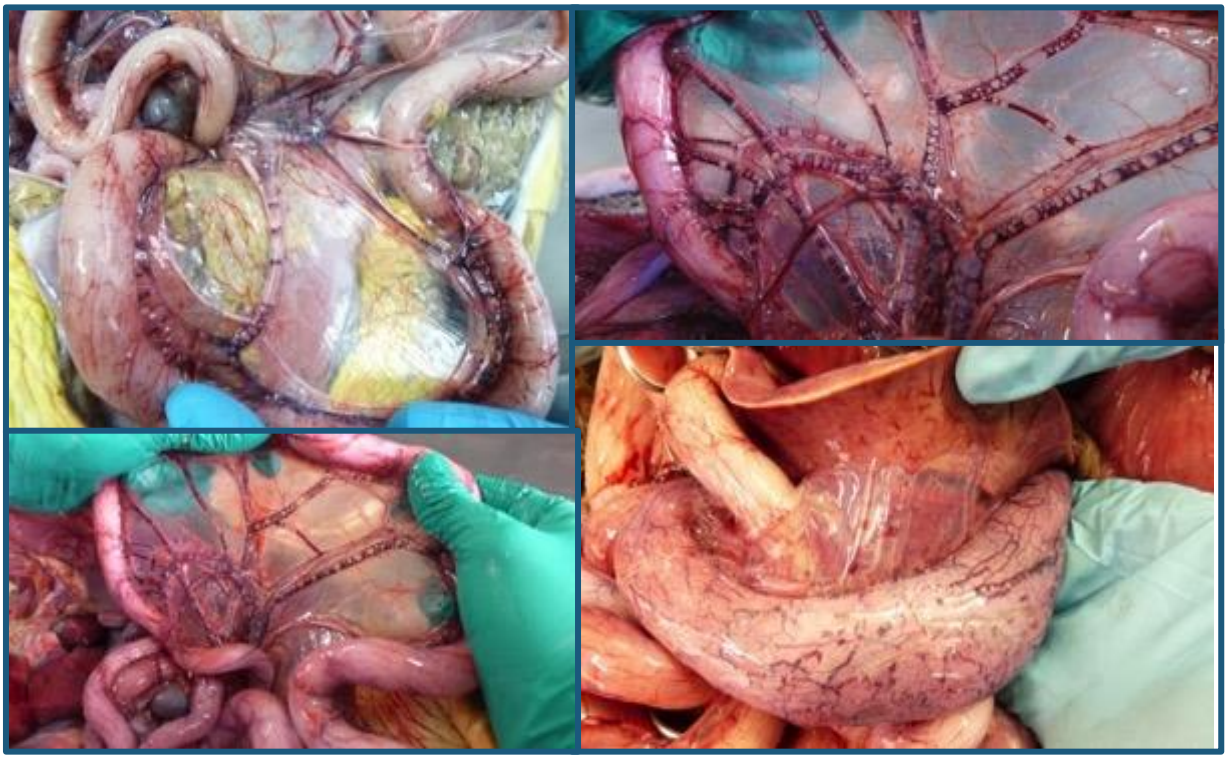


Figura 87: Casos severos con evidente presencia de gas en vasos mesentéricos (A,B yC) y en mesos y en la vascularización que discurre por los ligamentos como el gastrohepático y en serosa gástrica (D). Nótese la distensión de las venas por el gas. En el recorrido de las venas por el mesenterio se pueden observar también las arterias mucho más finas y opacas (blancas) donde las burbujas también están presentes, pero son mucho menos evidentes. Sobre las serosas se evidencian zonas de isquemia y de congestión asociada.



Figura 88: A. Caso severo de EG con presencia de abundante cantidad de gas distendiendo la vasculatura de la serosa gástrica. Nótense las zonas de congestión y hemorragia asociadas. B. Vasos mesentéricos exangües y completamente distendidos por el gas. La porción de intestino implicada se ve claramente congestiva.

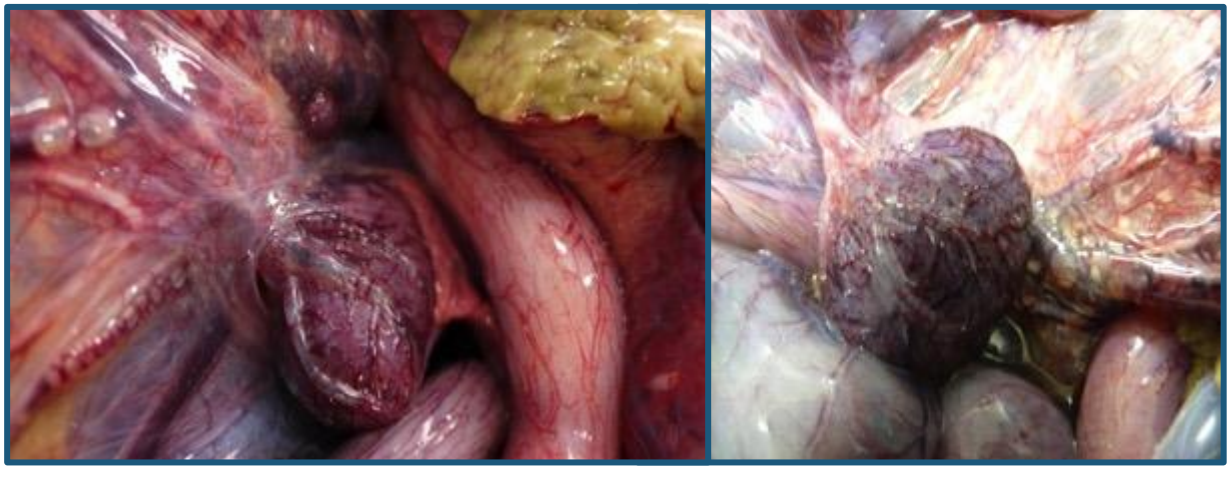


Figura 89: Vascularización esplénica afectada por el EG severo. El bazo en algunos casos puede llegar a estar enfisematoso.

Más allá de la presencia de gas patológico en el interior del compartimento vascular, las lesiones agudas de DCS en tortugas se suelen asociar también con la presencia de zonas de congestión y/o hemorragia en múltiples órganos o sistemas. Esta es una consideración importante a tener en cuenta a la hora de evaluar animales aparecidos varados o de origen desconocido, donde a veces la presencia de gas intravascular puede ser cuestionado por la putrefacción y otros posibles orígenes. La presencia de ciertas lesiones congestivas o hemorrágicas en nuestra visión serían muy sugerentes de EG y DCS. Estas lesiones más típicas se producen más frecuentemente en dos sistemas: el sistema renal y el sistema digestivo y particularmente la mucosa intestinal. A nivel renal, los animales afectados por embolismo severo suelen mostrar muy frecuentemente (más del 90% de los casos) zonas

congestivas/hemorrágicas más frecuentemente en los márgenes y el polo caudal del riñón, mientras que otras regiones de la corteza renal pueden mostrarse isquémicas (**Figura 94**).

En el caso de la mucosa intestinal, los animales con embolismo moderado o severo suelen mostrar en más de un 80% de los casos, un fenómeno de congestión en bandas transversales muy característico (

Figura 90). En nuestra experiencia ninguna de estas dos tipologías lesionales había sido previamente detectada en tortugas marinas muertas por otras causas ni descrita en la literatura por lo que consideramos que podrían ser consideradas lesiones altamente sugerentes de DCS cuando aparecen en animales con otros signos o historia clínica compatibles.

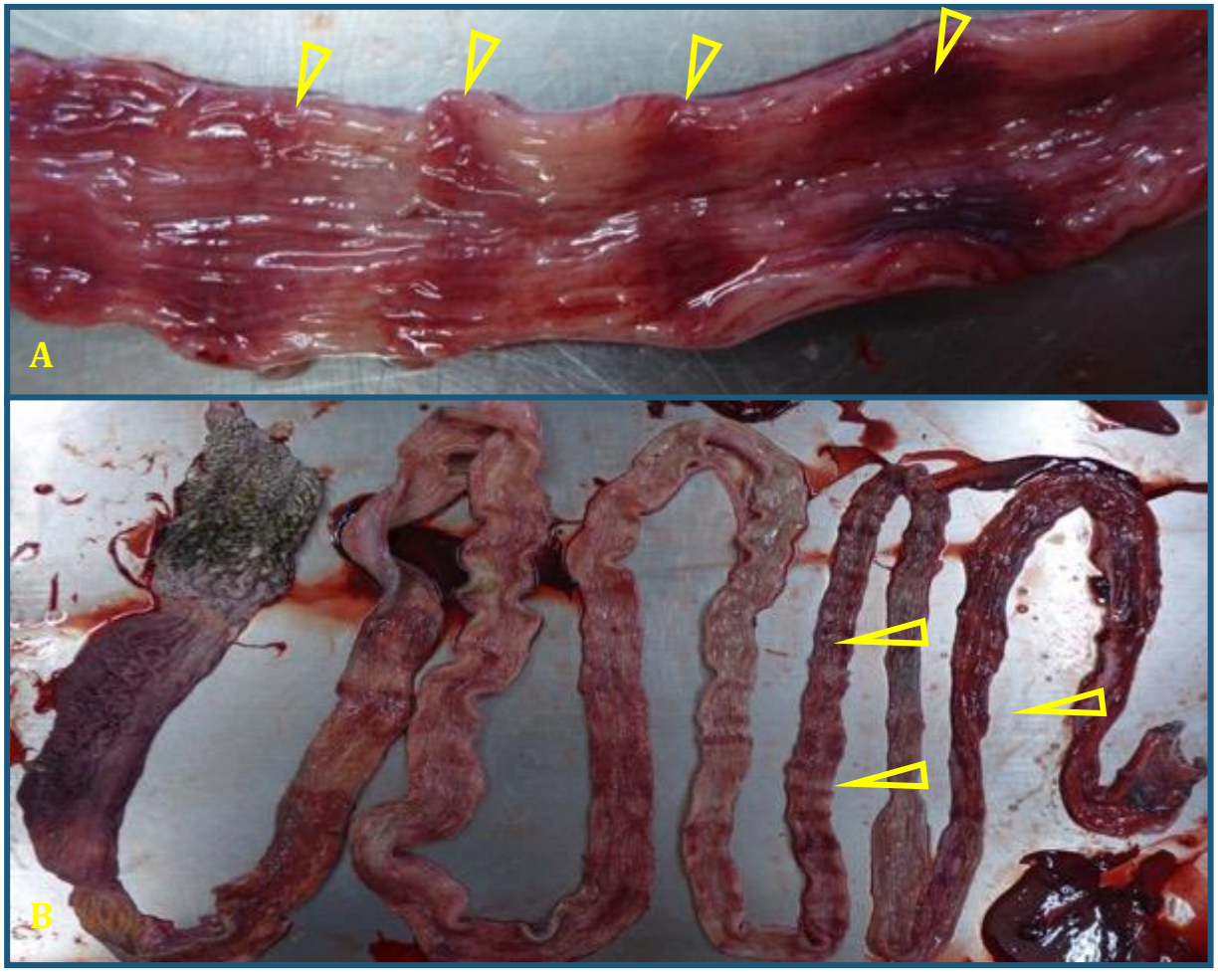


Figura 90: Congestión segmentaria de la mucosa intestinal tras su apertura. Se pueden observar bandas de isquemia y congestión (flechas) a lo largo de diversas porciones del tracto intestinal. A fotografía de detalle. B. Apertura del tracto digestivo completo desde el esófago (izquierda de la imagen) hasta la cloaca.

Destacar que hemos tenido casos de algunos animales que ingresaron con embolismo moderado y/o severo y que sobrevivieron al insulto inicial gracias al tratamiento, pero terminaron muriendo días después, que llegaron a desarrollar lesiones más crónicas de tipo neumónico o incluso enteritis fibrinosa muy probablemente como problema asociado a la isquemia, necrosis e invasión microbiana de la mucosa intestinal asociada al embolismo. La caracterización de estas lesiones más crónicas en los supervivientes a corto plazo es precisamente una de las líneas de trabajo que llevamos actualmente y será objeto de otro trabajo de Tesis Doctoral.

Otro aspecto relativamente característico observable en los casos de embolismo más severo (no así en casos leves ni en moderados), es la extravasación de suero sanguíneo al espacio celómico como resultado del fallo vascular y el impedimento en el retorno venoso asociado al embolismo masivo. Se observa por tanto en la apertura de la cavidad un aumento del líquido libre que además presenta un color más amarillento y turbio de lo normal (generalmente es incoloro). Este hallazgo además se suele asociar a un incremento del hematocrito sanguíneo en la analítica (**Figura 91**).

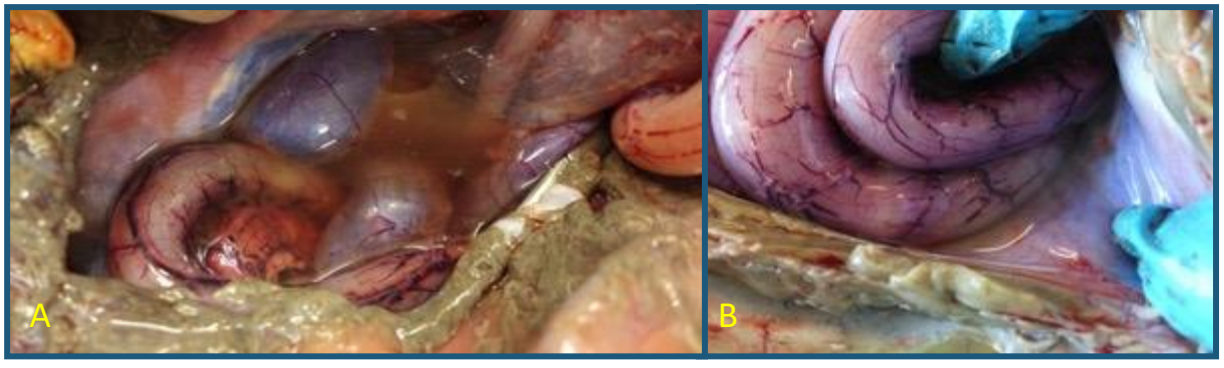


Figura 91: A Presencia de trasudado celómico abundante asociado a un proceso de EG severo que lleva a una extravasación de suero sanguíneo e incremento del hematocrito. El trasudado en estos casos es más abundante y amarillento que el líquido celómico en condiciones normales. B Ligero aumento del líquido celómico en un caso moderado.

A nivel del aparato respiratorio y más allá de los casos de aspiración que no son infrecuentes (aunque ésta es una patología independiente de la DCS), un hallazgo que no es infrecuente en casos de embolismo severo (presente en aproximadamente un 30% de los casos), es la presencia de enfisema pulmonar típicamente en la región más craneal de los pulmones, que permanecen hinchados tras la apertura del celoma en vez de tender a colapsarse como es habitual (**Figura 93**).

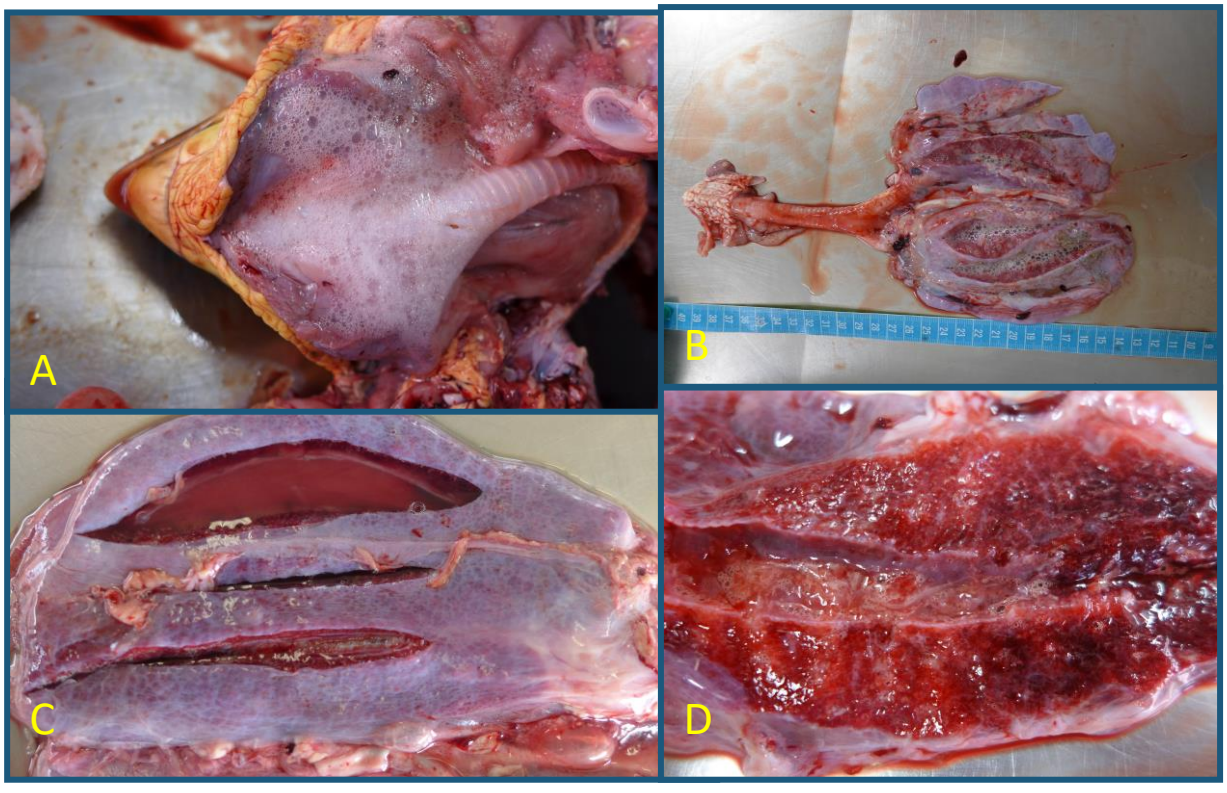


Figura 92: Evidencias de aspiración de agua de mar en la apertura del aparato respiratorio. A) Abundante presencia de espuma tras la sección de la tráquea. B) Pulmones rezumando abundante líquido y espuma tras la sección del parénquima. C) Abundante presencia de líquido en el interior de uno de los pulmones tras su sección. D) Tras la eliminación del líquido y la espuma, el parénquima de los pulmones afectados queda edematosos y exudativos. Se aprecian también zonas de congestión.



Figura 93: Tortugas afectadas por enfermedad descompresiva. En algunos casos la región más craneal de los pulmones puede aparecer enfisematosas y completamente distendidas por el gas (no se colapsa tras la apertura).

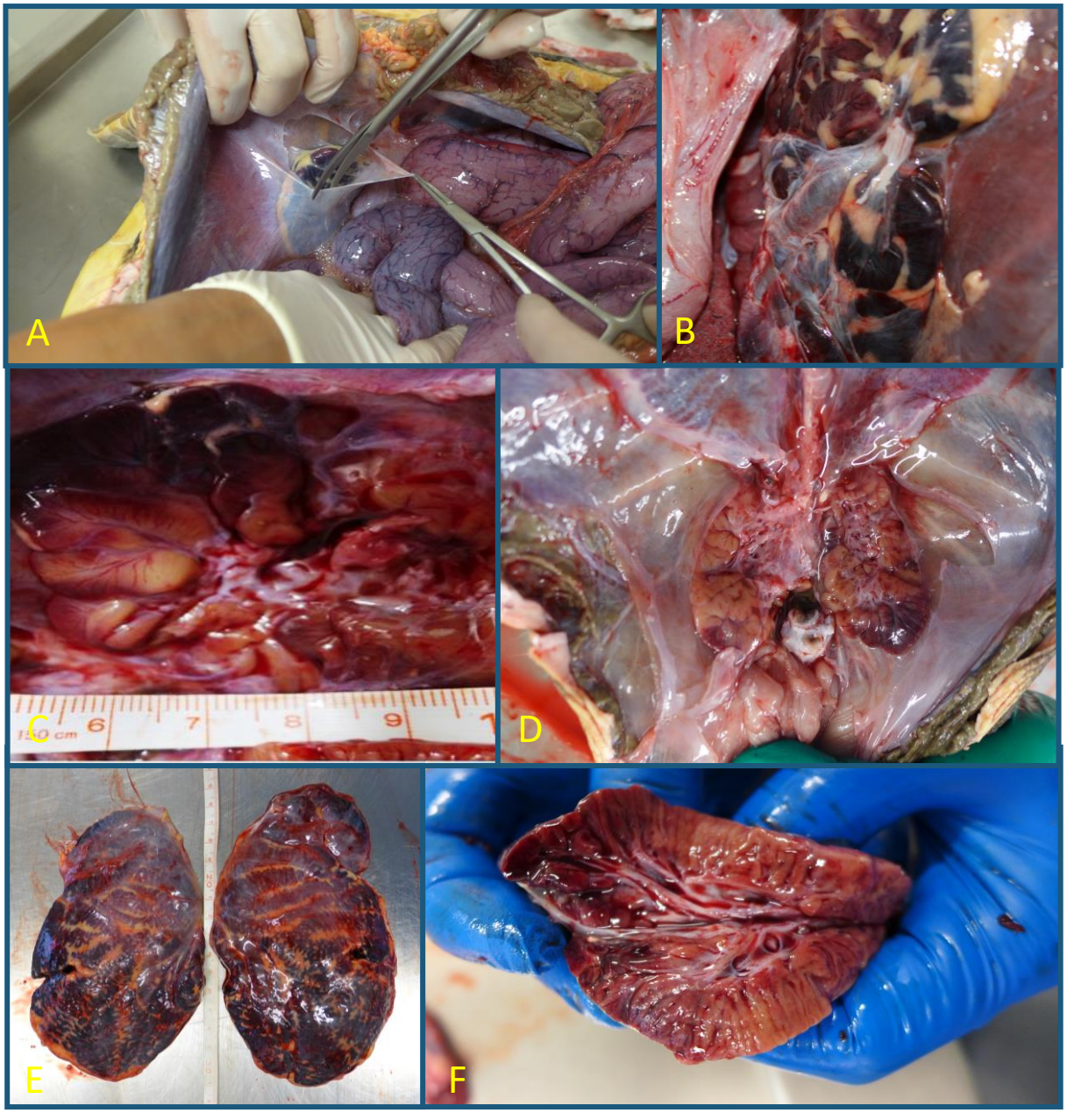


Figura 94: Lesiones renales observadas en tortugas afectadas por enfermedad descompresiva. A) Apertura de la membrana celómica visceral para exponer los riñones que ya se aprecian congestivos a su través. B) Presencia de gas en venas renales. Se aprecia asimismo la presencia de zonas de congestión en el parénquima. C) Detalle de uno de los riñones de un animal afectado mostrando zonas oscuras de congestión y otras más claras de isquemia. D) Exposición de la cara ventral de ambos riñones tras la eliminación de los órganos internos y la retirada de la membrana celómica. Obsérvese la congestión de la porción caudal de ambos riñones. Anatómicamente se aprecia como los riñones se ubican justo por detrás del borde caudal del pulmón. E) Imagen de la cara dorsal de ambos riñones mostrando áreas de fuerte congestión/hemorragia especialmente en su polo caudal. F) Sección de uno de los riñones de un animal afectado mostrando zonas corticales isquémicas (pálidas) y zonas corticales de congestión/hemorragia (oscuras).

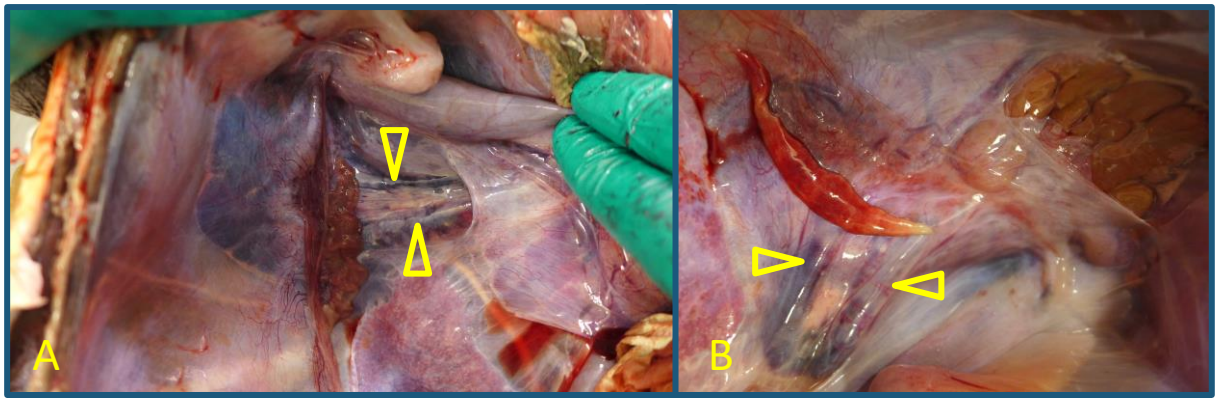


Figura 95: Evaluación de las venas renales (flechas) y las gónadas durante la necropsia. A) Ovario inmaduro ubicado justo a la entrada del hilio renal donde se pueden observar las venas renales llenas de burbujas de gas (flechas). B) Testículo inmaduro ubicado justo entre el pulmón y el riñón sobre el hilio renal donde se aprecia la presencia de abundante cantidad de gas (flechas). El testículo en si también se muestra congestivo en algunas porciones.

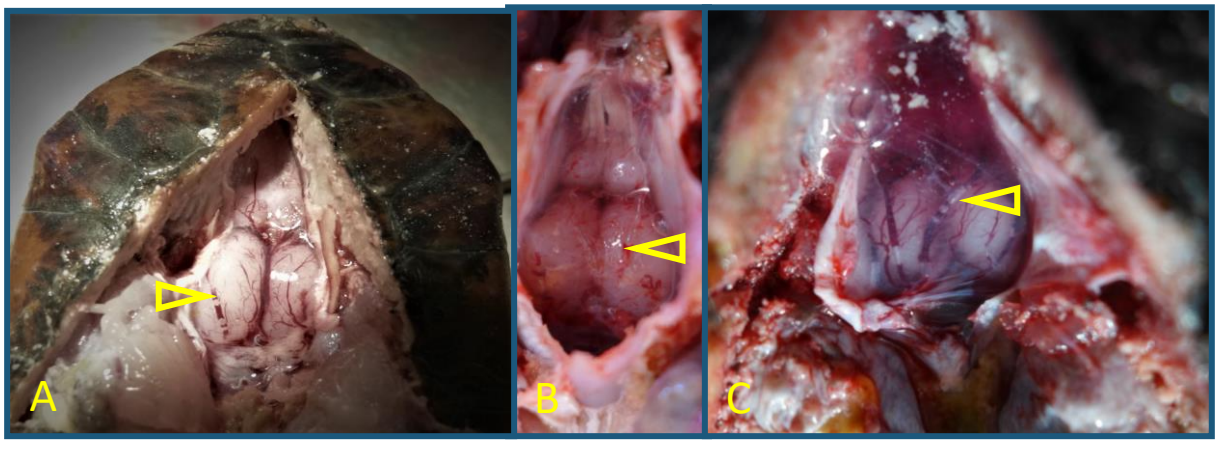


Figura 96: Tras la apertura del cráneo se puede evidenciar la presencia de burbujas de gas en vasos meníngeos encefálicos en 3 especímenes muertos como consecuencia de un cuadro de DCS. Aquí una vez más es muy importante hacer una disección muy cuidadosa para no generar artefactos al traccionar de las meninges.

Por último, y también como nuevo hallazgo complementario a la presencia de gas intravascular en los diferentes órganos o sistemas anatómicos, en algunos ejemplares se ha podido detectar también la presencia de gas intraarticular en las cavidades sinoviales de animales afectados de descompresión severa (**Figura 97**). Este tipo de afectación no se ha estudiado sistemáticamente en todos los animales necropsiados y actualmente continua siendo objeto de estudio, pero podría ser comparable a los hallazgos que se observan en humana y que dan origen al nombre de la enfermedad en inglés “the bends” por el dolor y agarrotamiento que produce a la flexión de las articulaciones (Barratt et al., 2002;

Vann et al., 2011).

Durante la necropsia como ya viéramos en el primer capítulo también, en caso de duda también se puede proceder a tomar muestras del gas intravascular siguiendo el protocolo de Bernaldo de Quirós et al (Bernaldo de Quirós et al., 2011) y prestando especial cuidado para evitar la contaminación de la muestra con aire atmosférico. Posteriormente la muestra de gas podrá ser remitida en condiciones especiales al laboratorio para ser analizada en un espectrómetro de gases masas y así conocer su composición exacta permitiendo complementar el diagnóstico de DCS y evitando confundir principalmente el gas procedente de una descompresión (compuesto principalmente por nitrógeno), con posibles fenómenos putrefactivos (Bernaldo de Quirós et al., 2012; Bernaldo de Quirós et al., 2013a; Bernaldo de Quirós et al., 2013b) .



Figura 97: Presencia de burbujas de gas en líquido sinovial en la articulación coxofemoral de un animal afectado por EG severo.



Figura 98: Técnica con tubos vacutainer para la adecuada toma de muestras de gas según (Bernaldo de Quirós et al., 2011) para la verificación posterior de su composición mediante el análisis laboratorial por cromatografía de gases.

D – APORTACIONES CLÍNICAS AL TRATAMIENTO

Durante este periodo de 10 años, se han tratado un total de 374 tortugas procedentes de pesquerías que llegaron vivas al CR de las cuales, 194 presentaban signos clínicos de EG que se pudo confirmar mediante pruebas de imagen. Globalmente, la supervivencia de los animales entregados vivos fue del 95,19%, reduciéndose al 91,23% en aquellos pacientes que ingresaron vivos con algún grado de EG. En este último grupo, la mortalidad fue muy superior para los casos procedentes de trasmallo (20%) que en los tratados procedentes de arrastre donde sólo se alcanzó un 5,85% de bajas tras el tratamiento. Este resultado contrasta con los datos aportados y aun pendientes de publicar de un grupo de la Universidad de Bari (en Italia) donde describen una mortalidad del 10% asociada a los casos de embolismo que llegan vivos al CR procedentes del arrastre (Franchini et al., 2021) (en revisión). Las diferencias más significativas entre ambos estudios radican en que en el caso de los animales de Italia no se aplicó ningún tratamiento específico (sólo se mantuvieron los animales en cubas acolchadas en seco o con poca agua), el tiempo de resolución de la enfermedad fue mucho más lento (de hasta 13 días) y los animales se liberaron entre el día 1 y 13 post ingreso, pudiendo no detectar algunos casos de las muertes adicionales que en nuestra experiencia pueden tener lugar varios días tras el ingreso a pesar de sobrevivir al insulto inicial. Por este motivo en nuestro caso nunca se liberan animales antes de 4 semanas (y típicamente pasan un mínimo de 6 u 8 semanas tras su ingreso) y siempre una vez se han normalizado los parámetros analíticos, comportamentales y de alimentación. La ausencia de tratamiento con oxigenoterapia (idealmente HBOT) en los casos de Italia, podría implicar también una mayor duración de la hipoxia en diferentes órganos y tejidos llevando a un mayor riesgo de secuelas. El tratamiento HBOT parece además la única opción terapéutica para los casos con embolismo grave que se presentan ya estuporosos o comatosos. Mientras que esta terapia permitió en nuestro centro reducir las mortalidades al 3,16%, 11,27% y 22,22% para los casos de embolismo leve, moderado y severo respectivamente, en el trabajo pendiente de revisión de Franchini *et al.* donde no se empleó tratamiento específico, la mortalidad reportada para los casos letárgicos/comatosos afectados por la enfermedad fue del 83,33% (10/12).

Volviendo a nuestro caso y atendiendo a la severidad del embolismo, la supervivencia de los pacientes que ingresaron vivos sin embolismo y que únicamente recibieron tratamiento de estabilización fue del 99,45% (177 casos y sólo 1 muerte). Los casos con embolismo leve y que se sometieron a tratamiento específico HBOT tuvieron una supervivencia del 96.84% (95 animales tratados y 3 muertes). Los pacientes con embolismo moderado sobrevivieron en un 88,73% de los casos (71 animales tratados y 8 bajas). Por último, en los pacientes con embolismo severo se alcanzó una supervivencia del 77,78% (27 casos y 6 bajas) gracias a la terapia HBOT (**Tabla 3**).

Tabla 3: Parámetros de mortalidad en base a la severidad del embolismo al ingreso.

Parámetro	Total	Muertes (n)	Mortalidad %
Numero de ingresos vivos sin EG	177	1	0,56
Numero de ingresos vivos con EG leve	95	3	3,16
Numero de ingresos vivos con EG moderado	71	8	11,27
Numero de ingresos vivos con EG grave	27	6	22,22

El objetivo de este apartado es el de compilar la información más relevante obtenida con nuestra experiencia en el tratamiento de todos estos casos. En el próximo capitulo donde hablaremos del impacto de la enfermedad, se tratará y detallará de forma más exhaustiva la información asociada a las causas de ingreso, índices de mortalidad y supervivencia pre y post tratamiento y factores ambientales asociados.

Todos los animales que ingresaron en el CR procedentes de pesquerías fueron examinados y revisados con el fin de poner el tratamiento más adecuado. La mayoría presentó hallazgos patológicos asociados a la captura accidental incluyendo lesiones externas, signos de hipoxia/acidosis/ahogamiento, o de aspiración de agua de mar entre otros. Estos individuos recibieron tratamiento de emergencia y/o terapia general de soporte con fluidoterapia, oxigenoterapia y los medicamentos específicos en base a los hallazgos clínicos detectados de acuerdo con las recomendaciones clínicas para tortugas procedentes de pesca accidental (Bezjian et al., 2014; Norton, 2005) y según se describe en la metodología del primer capítulo y nuestras publicaciones al respecto (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2017).



Figura 99: Ejemplar de tortuga marina recién entregado al equipo de rescate en puerto. Siempre que es posible se procede a hacer un examen preliminar y estabilizar al paciente antes de su transporte por carretera hasta el CR.

El presente apartado se centra sin embargo en la optimización del tratamiento de los animales que llegaron vivos y se confirmó mediante técnicas de imagen que sufrían de algún grado de EG durante la exploración clínica. Desde que se dispuso de cámara hiperbárica en el CR del Oceanográfic en 2014, siempre que se pudo, los animales confirmados con EG en algún grado fueron tratados con HBOT, sumando un total de 135 casos tratados con esta técnica. Sin embargo, 59 animales afectados por embolismo no pudieron ser tratados con HBOT al ingresar por distintas causas. En 45 casos, no se pudo contar con una cámara hiperbárica disponible en el momento (la mayoría de estos casos acontecieron antes de 2014, o fueron ingresos en los que la cámara estuvo rota u ocupada por otras tortugas si ingresaron varios individuos a la vez). En los 14 casos restantes, el tamaño de los ejemplares afectados impidió su introducción en el interior de la cámara con la que se contaba en el momento.

Dado que es una condición potencialmente mortal, los ejemplares siempre se trataron tan pronto como fue posible con el fin de maximizar las posibilidades de supervivencia del paciente.

Adicionalmente, el tratamiento precoz permite restablecer la perfusión evitando o minimizando posibles secuelas tales como los daños producidos por los émbolos de gas en órganos vitales, como el riñón, el corazón y el sistema nervioso central.

En todos los pacientes afectados de DCS, antes del tratamiento hiperbárico, se estableció un tratamiento de choque y estabilización tal cual se describió en el primer capítulo (García-Párraga et al., 2014). Dependiendo de la gravedad de los signos clínicos, algunas de estas medidas de estabilización podrían ser aplicadas a bordo del buque pesquero durante el transporte a puerto o durante el transporte en carretera hasta el CR. La terapia de apoyo básico está fundamentalmente destinada a promover la circulación de la sangre y la perfusión tisular, así como a recuperar la respiración voluntaria y la oxigenación tisular. Entre otros generalmente se aplican: la fluidoterapia agresiva (10-20 ml kg^{-1} BW), cardiotónicos, analépticos respiratorios, analgésicos y/o la suplementación con oxígeno normobárico a través de una mascarilla, tubo endotraqueal o de una unidad de cuidados intensivos. A pesar de que el uso de antiinflamatorios esteroideos (glucocorticoides) pudiera ser controvertido debido a los posibles efectos secundarios, en nuestra experiencia basada en este amplio número de individuos con descompresión, parece que los beneficios podrían superan los riesgos, y nosotros recomendamos su uso en casos moderados y severos (dexametasona 0,5-1,2 mg kg^{-1} BW IM o IV). También optimizamos el tratamiento complementando la terapia con antibióticos de amplio espectro y vitaminas (especialmente las del complejo B con el fin de favorecer la reparación tisular y especialmente del tejido nervioso (Becker et al., 1990; Gröber et al., 2013; Okada et al., 2010). El seguimiento post tratamiento incluyó la vigilancia de los electrolitos, el hematocrito y los niveles de fósforo y ácido úrico, reajustando la fluidoterapia en base a los resultados diarios. En los casos en los que el embolismo se acompañó de aspiración de agua de mar, el pronóstico fue bastante más pobre, llevando a la muerte en a un 20% de todos los casos que llegaron vivos, y fue esencial proporcionar una estrecha vigilancia durante un período mayor de tiempo dado el riesgo de complicaciones.

Dado que, al menos con nuestras cámaras hiperbáricas, los animales no pueden ser ventilados artificialmente cuando están en el interior, la terapia por regla general sólo se inició cuando la tortuga marina respiraba espontáneamente. Se puso por tanto especial énfasis en los primeros minutos tras el ingreso, en que el animal mantuviese una ventilación más o menos estable empleando tanta farmacoterapia como estimulación mediante acupuntura del punto GV26 (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Litscher, 2010; Parga et al., 2017). A futuro, debería ser posible avanzar aún más en la terapia mediante el uso de cámaras o incluso salas más grandes totalmente presurizadas con las que cuentan algunos hospitales donde los animales podrían estar conectados a ventiladores mecánicos o incluso con el uso de cámaras diseñadas para que los veterinarios y los asistentes pudieran entrar con la tortuga a tratar cuando esta se encuentre

inconsciente. Hemos de tener en cuenta que, en caso de interrupción de la respiración, la eliminación de nitrógeno se ve impedida lo que muy probablemente podría conducir a la muerte del paciente en el interior de la cámara.

Los protocolos de medicina humana más comunes utilizan tablas de descompresión-recompresión donde el tratamiento generalmente dura unas 5 horas y la máxima presión alcanzada es de 1,8 atmósferas de presión relativa alternando el oxígeno puro y el aire atmosférico como gases terapéuticos (James and Jain, 2017; Mahon and Regis, 2014b; Tibbles and Edelsberg, 1996; Vann et al., 2011). Estas tablas se pueden modificar para alcanzar mayores presiones jugando con mezclas de diferentes gases en función de la gravedad de los casos de DCS y a discreción del especialista hiperbárico. Tal y como describimos en la metodología, como punto de partida, empleamos los protocolos estándar de humana que hasta ahora eran los más conocidos y ofrecían buenos resultados. Sin embargo, en el caso de las tortugas descomprimidas y probablemente dados sus mayores niveles de nitrógeno acumulado y sus menores tasas de eliminación de gas, tras terminar el ciclo de 5 horas en algunos pacientes seguían presentes restos de gas intravascular. Por tanto, de forma progresiva se llevó a cabo una adaptación de los protocolos de humana sobre la base de las diferencias anatómicas y fisiológicas de las tortugas, prolongando los regímenes de tratamiento en el interior de la cámara (hasta 12 a 16 horas), lo que condujo a mejores resultados, con una recuperación total y sin detectarse ya restos de gas intravascular post tratamiento. En base a nuestros recursos disponibles actualmente y a diferencia de las recomendaciones de humana, en tortugas utilizamos en todos los casos oxígeno puro durante todo el procedimiento. Aunque lo ideal en principio sería poder alternar ciclos de oxígeno puro con aire comprimido normal (James and Jain, 2017; Mahon and Regis, 2014b; Tibbles and Edelsberg, 1996; Vann et al., 2011), esta opción no está disponible en nuestro caso.

A día de hoy y en base a la experiencia acumulada, e protocolo más optimizado plantearía, el empleo de una presión inicial de 1,8 atm mayor que el nivel del mar (2,8 ATA) mantenida durante las primeras 2-4 horas para posteriormente disminuir gradualmente durante las siguientes 4 horas hasta 0,9 atm (1,9 ATA) donde la presión se mantiene durante las siguientes 4-6 horas. En las últimas 2 horas la presión disminuye progresivamente hasta la presión atmosférica al nivel del mar (1 ATA) antes de abrir la cámara. Es esencial durante las fases de reducción de presión poder observar la respiración de los animales (de ahí la importancia de las ventanas de acrílico para ver a los pacientes). Dado que las tortugas aguantan la respiración en apnea inspiratoria de forma fisiológica, una bajada drástica de la presión ambiental podría llevar al animal a sufrir una rápida expansión pulmonar y un barotrauma (Knight, 1996; Tibbles and Edelsberg, 1996). El protocolo actual es aún experimental y ajustable en base a diferentes variables y requisitos técnicos de la cámara (límites de presión) y la gravedad del cuadro en el paciente. En un momento dado, para los casos más graves podría ser aconsejable utilizar

incluso mayores presiones iniciales en una mezcla gaseosa con menores concentraciones de oxígeno (para evitar su posible toxicidad) con el fin de reducir el tamaño de la burbuja lo más rápidamente posible. Con oxigeno puro no se recomienda superar los 2,8ATA con el fin de evitar problemas de neurotoxicidad (Barthelemy et al., 1981). Es también importante recordar que el oxígeno es altamente inflamable y explosivo, por lo que es esencial establecer unos adecuados procedimientos de trabajo con la cámara con el fin de maximizar la seguridad.

Es importante evitar fuertes oscilaciones de temperatura durante el proceso de recompresión y descompresión. Con la expansión del oxígeno la temperatura de la cámara puede llegar a bajar bastante y se requiere que la tortuga se mantenga por encima de los 18-20ºC para que esté metabólicamente más activa y mantenga una buena frecuencia respiratoria. Por otro lado, el calentamiento súbito de los ejemplares en agua caliente o con calefactores o las temperaturas muy altas (por encima de los 26-28ºC) en animales hipóxicos o afectados por DCS, también podrían ser contraproducentes ya que podría fomentar la salida de más nitrógeno fuera de la solución (facilitar el gas-off) e incrementar el consumo de oxígeno en los tejidos agravando la acidosis y la hipoxia. Nosotros tratamos gradualmente de recuperar temperatura en los animales que llegan por debajo de los 18-20 ºC pero siempre de forma muy gradual, sin superar los 26-28ºC y a ser posible siempre durante la administración de oxígeno suplementario.

Con el tratamiento hiperbárico hemos podido evidenciar la mejora en los resultados mediante la realización de algunas maniobras excepcionales. A pesar de la recomendación general que comentamos anteriormente de no introducir animales que no respiren regularmente y teniendo en cuenta las limitaciones de no poder acceder al paciente cuando está en el interior de la cámara, en casos muy severos en estado comatoso cuando existe una ausencia total de respiración espontánea y no hay respuesta a la estimulación, hemos podido evidenciar el beneficio de someter los pacientes a protocolos de tratamientos HBOT más cortos (5 horas), introduciendo al paciente inconsciente intubado con un tubo endotraqueal dentro de la cámara para equilibrar las presiones y permitir la difusión pasiva de oxígeno a través del pulmón. Esta maniobra permite comprimir las burbujas intravasculares de nitrógeno reduciéndolas de tamaño y ayudando a su redisolución, facilitando el restablecimiento del flujo sanguíneo, y acelerando la difusión de oxígeno a través de los pulmones, lo que ha llevado a un tratamiento exitoso en algunos casos críticos. Los animales que por falta de respuesta a la reanimación tuvieron que ser intubados, permanecieron estrechamente vigilados para ser extubados tan pronto como recuperaran la conciencia y comenzaran a respirar espontáneamente. De no realizar esta maniobra, muchos pacientes no restablecen la respiración espontánea, no se podrían recomprimir y terminarían muriendo. Después de este primer ciclo corto de recompresión la tortuga siempre debe ser reexaminada, administrarle tratamiento de apoyo para garantizar su

estabilización y verificar la estabilidad de la respiración espontánea, para posteriormente someterse a un nuevo ciclo de recompresión ya sin intubación. Los ciclos pueden repetirse según sea necesario. Algunos pacientes críticos se salvan gracias a este nuevo procedimiento.



Figura 100: Ejemplares comatosos intubados antes de iniciar una terapia corta de recompresión.

En los casos en los que no hay ninguna cámara hiperbárica disponible o cuando existen otras limitaciones que impiden su uso (como el propio tamaño de la tortuga o la falta de espacio al haber varios pacientes afectados a la vez), hemos podido evidenciar que el paciente también se beneficia de forma muy significativa de poder respirar en una atmósfera enriquecida con oxígeno normobárico puro durante 24-48h facilitando la reoxigenación y la eliminación del nitrógeno. En este caso la solubilidad del oxígeno en los tejidos no es tan alta y el efecto reductor de las burbujas de nitrógeno bajo presión para restablecer la circulación de forma más rápida no existe, pero aun así los beneficios de la terapia con oxigeno normobárico parecen ser muchos. De hecho, por el momento la supervivencia en 14 casos que no pudieron entrar en la cámara y fueron tratados con oxígeno normobárico durante un promedio de 48h (7 casos leves, 4 casos moderados y 3 casos severos) el éxito de supervivencia ha sido del 100%. Estos resultados tan prometedores están aún pendientes de publicación, si bien es cierto que el tamaño muestral es pequeño y la mayoría de los animales tratados con esta técnica eran de gran

tamaño (hay un sesgo poblacional porque principalmente se trataron así los que no cabían en la cámara al superar los 61cm de LCC). El tamaño de los animales tratados les podría conferir una mayor resistencia a la enfermedad y una mayor reserva funcional facilitando su supervivencia, pero en cualquier caso el beneficio del oxígeno puro normobárico en ausencia de cámara hiperbárica es evidente y esta técnica parece ser una propuesta terapéutica más realista y económica de cara a la mayoría de los centros de recuperación que no se puedan permitir el coste de una cámara hiperbárica. Sí hay que destacar que, de acuerdo con las pruebas de imagen, estos animales tardaron mucho más tiempo en eliminar totalmente el gas intravascular patológico (hasta 72 horas en vez de las 14-16h con la terapia HBOT), lo que también podría implicar una mayor afectación posterior de órganos y tejidos con el desarrollo de posibles secuelas. El tratamiento sin embargo es muy fácil y económico de aplicar. Sólo se requiere de colocar a los animales afectados en un recipiente que se pueda sellar de forma más o menor hermética y conectarlo a una fuente de oxígeno para que respiren en una atmósfera enriquecida. En nuestro caso empleamos una cuba de polietileno parcialmente llena con agua hasta el nivel de las narinas de la tortuga para ayudar a mejorar la respiración, y posteriormente sellada con una película de plástico de embalar a través de la cual se introducimos una cánula conectada a un concentrador de oxígeno convencional de uso hospitalario para administrar de forma continua oxígeno normobárico al 97% de riqueza (**Figura 101**).



Figura 101: Ejemplar de tortuga marina con EG sometida a tratamiento con oxígeno normobárico. Nótese que la cuba tiene algo de agua (dulce) para conferir algo de flotabilidad al animal y facilitar la respiración. Al mismo tiempo el agua puede facilitar la hidratación. La toma de oxígeno del concentrador debe atravesar el plástico que sella la parte superior de la cuba de tratamiento que debe ser estanca. Es importante controlar la temperatura de los animales para que no suba ni baje demasiado.

Como norma general, todos los casos de sospecha de EG y hasta que los animales pudieron someterse a terapia HBOT, se aplicó oxígeno normobárico tan pronto como fue posible a través de un tubo endotraqueal (en individuos inconscientes), con mascarilla, o en una cámara cerrada con el fin de mitigar los efectos de la hipoxia e ir facilitando la eliminación del exceso de nitrógeno absorbido. El tratamiento de emergencia convencional básico (García-Párraga et al., 2014; Norton, 2005; Parga et al., 2017) ayudó a mantener la circulación de la sangre y con ello la perfusión tisular, así como facilitó el restablecimiento de la respiración voluntaria. La estimulación del punto de acupuntura GV26 (ubicado en el philtrum nasal) con una aguja hipodérmica también supuso una ayuda con la resucitación en animales comatosos.

Actualmente además estamos evaluando también como posible alternativa terapéutica al HBOT para casos de DCS en tortugas cuando no hay ninguna cámara hiperbárica disponible (por ejemplo, en condiciones de campo) el uso de microburbujas de oxígeno (OMBs) asociadas a perfluorocarbonos como tratamiento alternativo. Estos compuestos además de facilitar el transporte de oxígeno a los tejidos hipóxicos, podría también facilitar la eliminación de nitrógeno (Fix et al., 2015; Riess, 2005; Swanson et al., 2010). Por ahora el tratamiento experimental se ha aplicado únicamente en 3 animales que han sobrevivido al proceso descompresivo y hace falta continuar con los ensayos antes de poder sacar más conclusiones. Sin embargo, más allá de la supervivencia, de forma preliminar podríamos decir que al menos de forma aparente sí parece que las 3 tortugas tratadas con PFCs pudieron haber eliminado la mayoría de las burbujas de nitrógeno intravascular de forma algo más rápida (en 14-18h) que los animales sin tratamiento específico (24-48h). En cualquier caso, estas hipótesis estarían aún por confirmar.

Todos los animales sometidos a terapia de recompresión en cámara hiperbárica fueron reevaluados mediante radiografía, ecografía y en algunos casos TC inmediatamente después del tratamiento para verificar los resultados de la terapia. En algunos casos, se repitieron pruebas ecográficas o de resonancia magnética semanas después. La verificación de la ausencia de gas patológico (intravascular o en tejidos) post tratamiento mediante técnicas de imagen fue de hecho lo que permitió optimizar los tiempos de terapia en función de la cantidad de gas detectado originalmente. En todos los casos en que fue necesario, la terapia de recompresión se repitió hasta hacer desaparecer todo el gas patológico de los individuos (**Figura 103; Figura 104**). Tras la terapia, los animales permanecieron bajo supervisión en el CR un mínimo de 4 semanas (generalmente 6-8 semanas) hasta garantizar la normalidad en su comportamiento, alimentación y paramétrica sanguínea. Esta práctica se considera importante porque en algunos casos se pueden detectar patologías o incluso hay animales que pueden llegar a morir incluso al cabo de varias semanas tras haber superado el insulto inicial probablemente

como consecuencia de los daños internos ocasionados por el embolismo, la aspiración (que puede llevar a neumonías) u otros efectos asociados a la inmersión forzada.

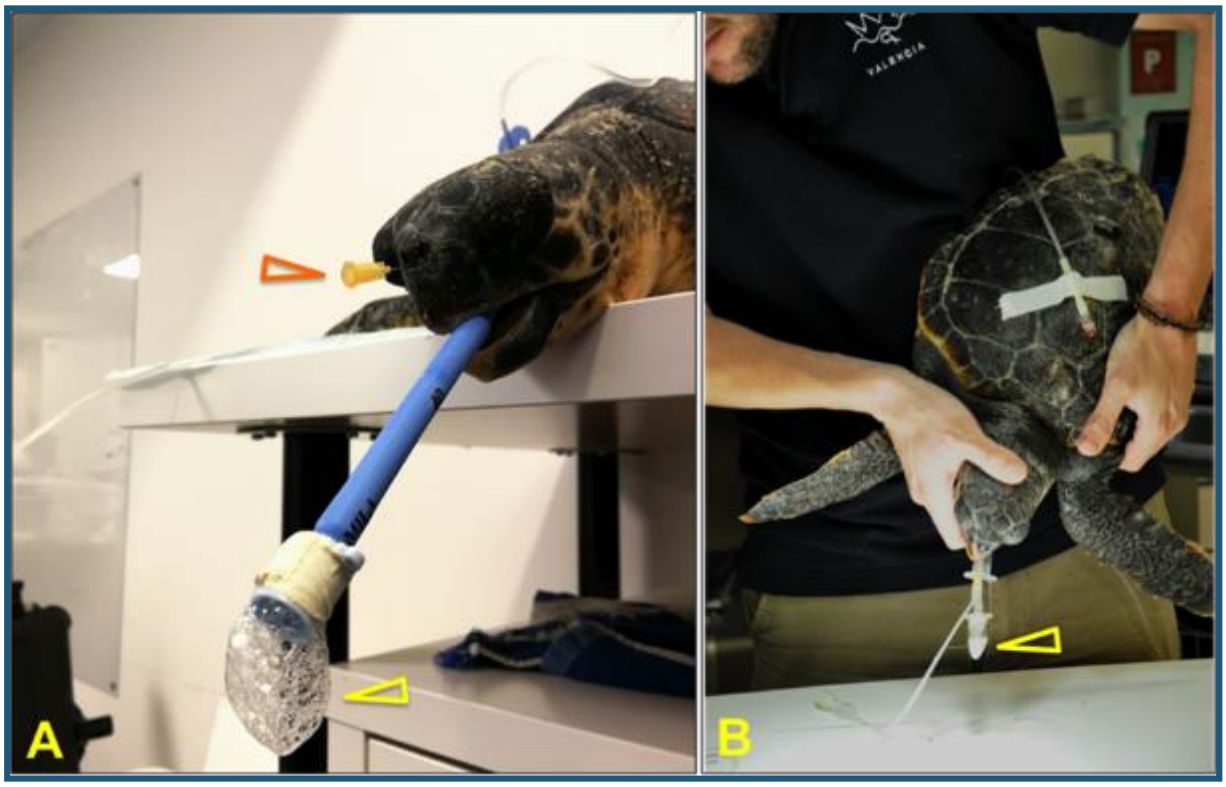


Figura 102: Ejemplares de tortuga boba tras el ingreso en el CR en estado comatoso y ser intubados con un tubo endotraqueal, mostrando signos de edema pulmonar (flechas amarillas: salida de agua y espuma por el tubo) como consecuencia de la aspiración de agua de mar. Mantener la vía respiratoria permeable es fundamental en caso de que el animal no respire, pudiendo introducirse así en la cámara hiperbárica si no se consigue reanimar. El animal en la fotografía (A) muestra además una aguja de insulina insertada en el philtrum nasal (acupunto GV26) (flecha naranja) con el fin de estimular la respiración. La colocación de la tortuga en un plano inclinado (B) puede favorecer la eliminación de líquidos. Es fundamental recuperar la máxima capacidad y funcionalidad pulmonar antes de introducir a los animales en la cámara para maximizar los beneficios de la terapia HBOT.

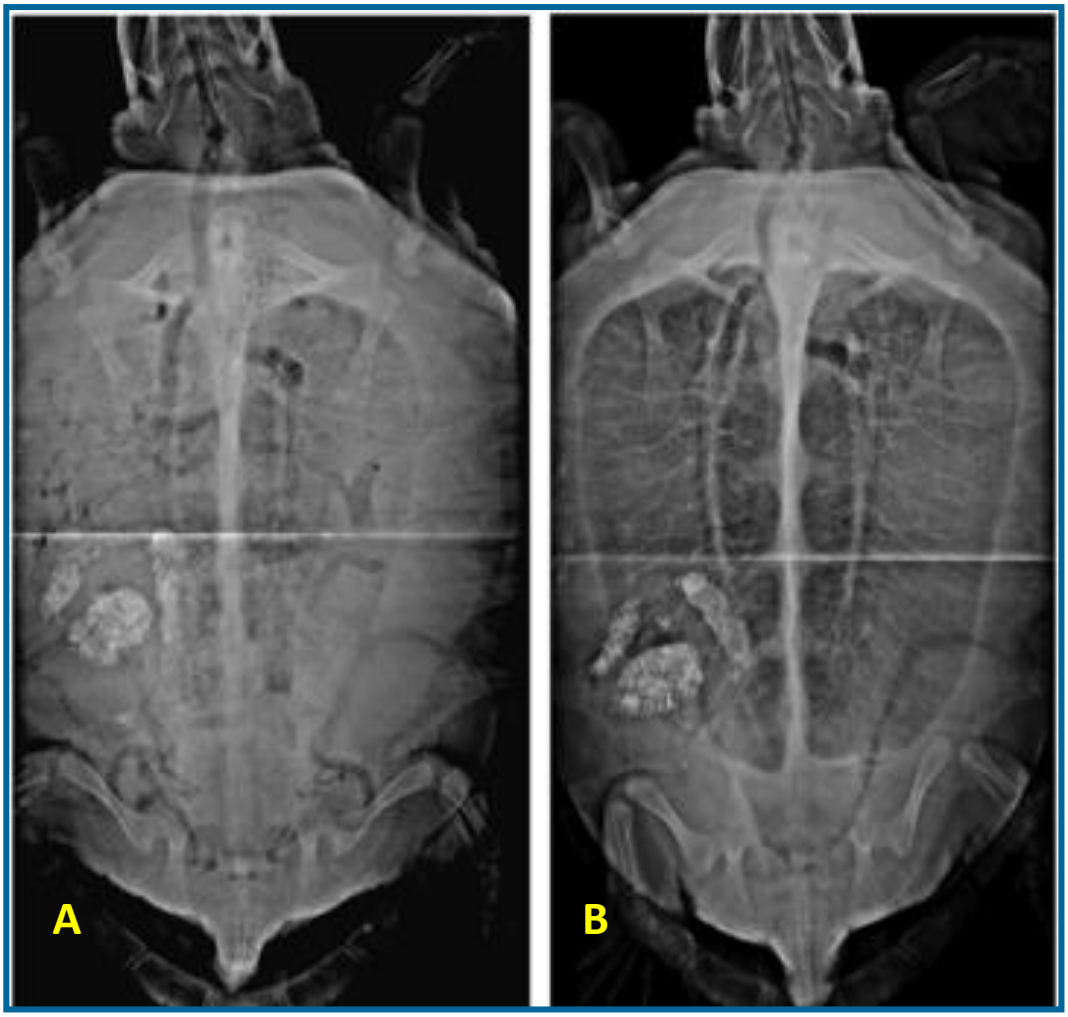


Figura 103: Radiografía simple DV de un ejemplar de tortuga marina ingresado con EG moderado. A: Imagen antes del tratamiento. Nótese la presencia de angiogramas de gas en grandes vasos sistémicos y renales, así como la falta de contraste del campo pulmonar como consecuencia de la compresión. B: Imagen tras 14h de tratamiento HBOT donde se evidencia la desaparición de los angiogramas y el restablecimiento

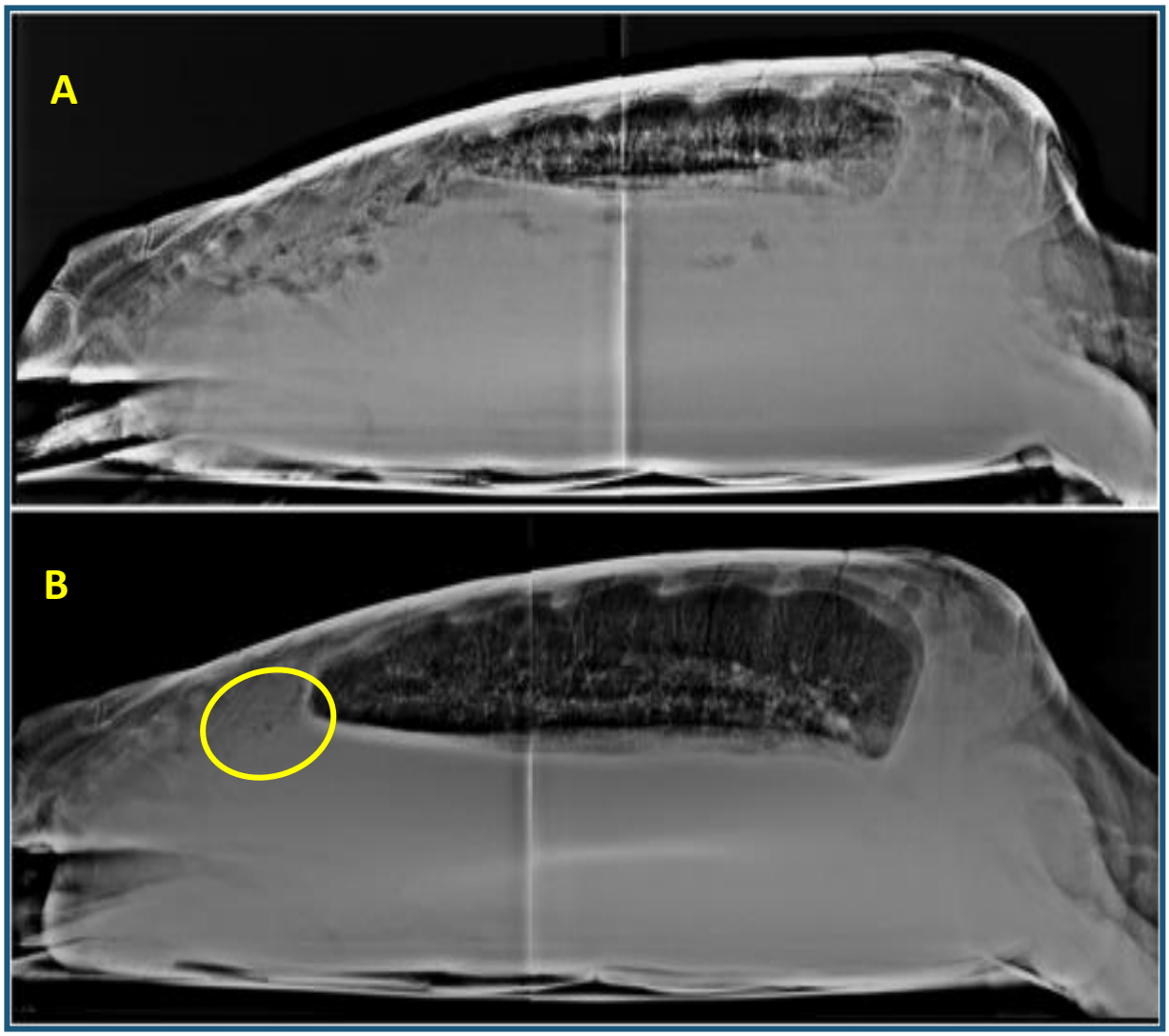


Figura 104: Radiografía simple LL del mismo ejemplar del caso anterior ingresado con EG moderado. A: Imagen antes del tratamiento. Nótese la presencia de angiogramas de gas en la región renal (caudal al pulmón) y hepática (ventral al pulmón) así como la falta de expansión del campo pulmonar normal. B: Imagen tras 14h de tratamiento HBOT donde se evidencia la desaparición de los angiogramas y el restablecimiento de la expansión pulmonar normal. Se puede apreciar una pequeña cantidad de gas residual post tratamiento en la región del riñón (óvalo), indicando que la duración de la terapia se ha podido quedar ligeramente corta.

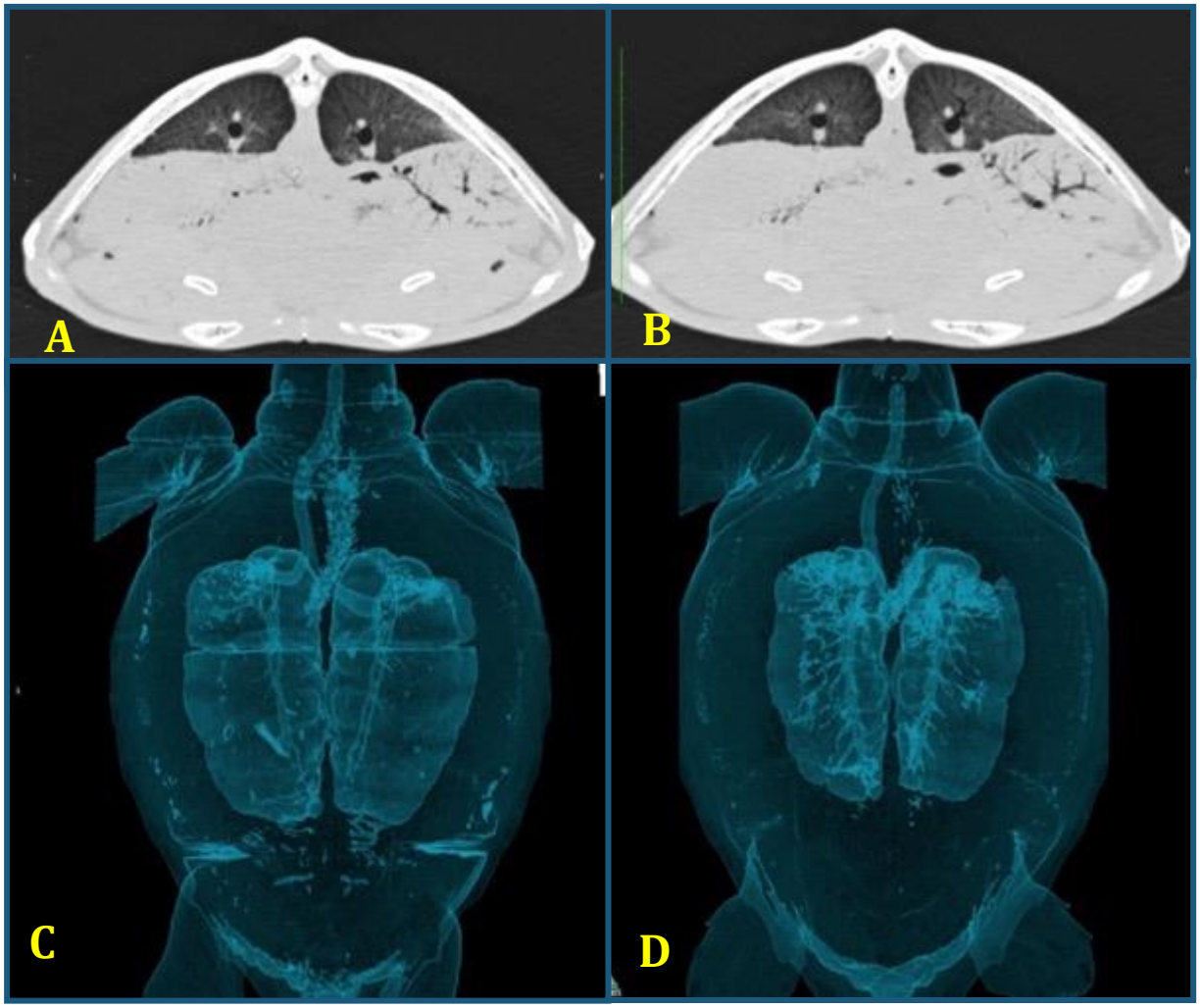


Figura 105: Imágenes de TC obtenidas de un individuo con embolismo leve-moderado tratado de forma experimental con perfluorocarbonos (PFCs) según recomendaciones del fabricante. A) Sección tomográfica transversal del celoma medio craneal a la altura del corazón. Nótese la presencia de gas principalmente en vasos hepáticos. B) Misma sección que en el caso anterior, pero 1,5h tras la administración de los PFCs. La sensación es que el gas intravascular se ha expandido definiéndose aún más los vasos. C) Vista dorsal de una recreación tridimensional de los espacios llenos de gas de la tortuga 1 hora tras la administración de los PFCs. Se evidencia la presencia fundamentalmente de gas patológico en la región renal. D) Misma vista que la anterior 14 horas tras la administración de los PFCs, donde ya prácticamente no queda gas intravascular (excepto muy levemente en la región renal).

E – PRONÓSTICO POST-TRATAMIENTO

En base a nuestra experiencia, las tortugas con DCS que llegan vivas al CR y son tratadas con terapia con oxígeno hiperbárico (HBOT) tienen altas probabilidades de sobrevivir. Más del 90% de los casos afectados que llegan vivos al CR así lo hacen (94,15% de supervivencia en los procedentes de arrastre y 80% en el trasmallo), en principio, gracias al tratamiento suministrado. En el Oceanográfic, desde el descubrimiento de la enfermedad en 2012-2013, nunca se han dejado tortugas sin tratar con el fin de conocer mejor los efectos de la enfermedad, ya que se trata de una especie amenazada y catalogada donde el veterinario del CR debe poner todos los medios a su alcance para salvar la vida de los animales. Sabemos en base a los primeros años (cuando no disponíamos de tratamiento específico en cámara hiperbárica), que la mayoría de los casos de embolismo moderado y severo terminaban muriendo a pesar del tratamiento de emergencia convencional (García-Párraga et al., 2014). Si no hay ninguna otra complicación (como aspiración, traumatismos, enfermedades concomitantes, etc.), la mayoría de los casos leves normalmente sobreviven incluso sin necesidad de suministrar un tratamiento específico, ya que las pequeñas cantidades de gas renal que se detectan, generalmente se reabsorben dentro de las siguientes 24 a 48 horas. Por otro lado, los casos moderados o severos generalmente mueren sin tratamiento con oxígeno hiperbárico a pesar del tratamiento de soporte. En casos de embolismo moderado, las tortugas frecuentemente se muestran activas o hiperactivas durante las primeras horas después de su captura, pero suelen morir en un plazo de 48 a 72 horas si no se aplica tratamiento hiperbárico. Los casos severos usualmente mueren dentro de las primeras 6 a 12 horas después de la captura, no habiendo en muchos casos margen para su transporte al CR y la aplicación del HBOT. En este último grupo, se ha observado que el tiempo transcurrido hasta la recompresión parece ser un factor vital para la supervivencia ya que la cantidad de gas intravascular es tan importante que se produce un fallo agudo multiorgánico. Hemos de considerar que por lo general se tardan unas horas desde la captura en el barco hasta la llegada a puerto, y posteriormente algunas horas adicionales para transportar los animales afectados hasta la cámara hiperbárica en el centro de rehabilitación. Esto conlleva a que los animales con embolismo severo lleguen ya muertos o en el mejor de los casos, en estado comatoso.

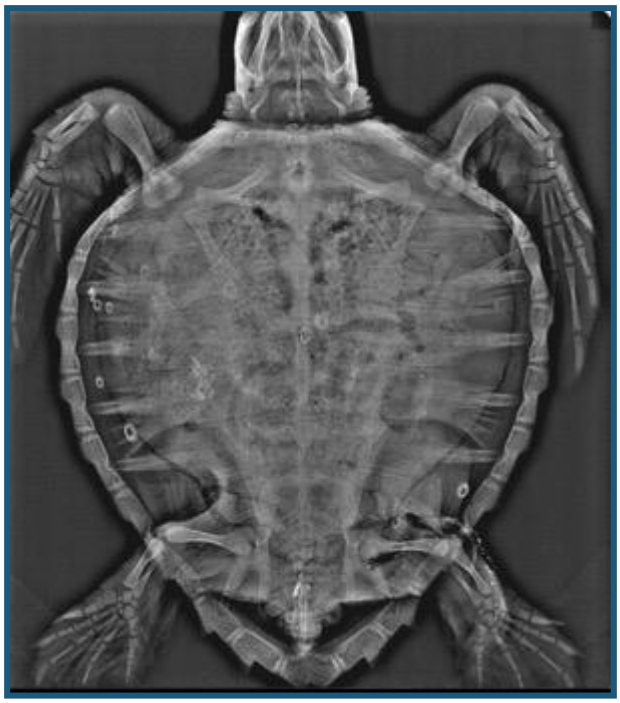


Figura 106: Ejemplar procedente de trasmallo con EG moderado y aspiración de agua de mar (imagen pulmonar en panal de abeja). En estos casos, casi el 50% de los animales que llegan vivos al CR terminan muriendo a pesar del tratamiento. El tiempo transcurrido hasta iniciar la terapia HBOT en estos casos es vital que se reduzca lo máximo posible.

El descubrimiento de esta condición plantea además una serie de cuestiones importantes sobre los posibles efectos ya no solo letales sino también subletales que podría generar la captura accidental de tortugas marinas y la eficacia de las medidas de mitigación actuales. Somos plenamente conscientes que la gran mayoría de las tortugas pescadas accidentalmente por barcos de pesca a nivel mundial nunca llegarán a un CR y en ese caso, prácticamente ningún centro a nivel mundial dispone de cámara hiperbárica para tratar los animales afectados. Así, consideramos fundamental además de estudiar el impacto del tratamiento sobre los animales capturados accidentalmente (que es el objeto de este apartado), el poder evaluar las consecuencias de la liberación inmediata al mar de estas tortugas, ya que esto último será lo que sucederá en la gran mayoría de los casos. El impacto de la enfermedad en las tortugas en condiciones de campo (a bordo de buques pesqueros y con una devolución directa al mar tras su captura), es precisamente el trabajo que se desarrollará en el tercer capítulo de esta Tesis Doctoral.

En cuanto al pronóstico de los animales que llegaron a nuestro CR y se sometieron a tratamiento, en nuestra experiencia, la supervivencia de los animales afectados dependió en gran medida de 4 factores clave: la gravedad de los signos clínicos en el momento de la llegada (cuadro clínico y examen neurológico), la cantidad total y distribución de gas intravascular (severidad del embolismo), el tiempo transcurrido desde la captura hasta la terapia con oxígeno hiperbárico (HBOT) y la evidencia de neumonía por aspiración de agua de mar. Tanto la severidad del embolismo como este último factor de aspiración de agua de mar están fuertemente asociados a las tasas de supervivencia. Si la tasa global de supervivencia para los animales que ingresan en el CR procedentes de la pesca se sitúa en el 95,72%, la supervivencia se reduce al 84,85% para los casos de aspiración, al 77,78% para los animales que

ingresan vivos con embolismo grave, y sólo al 57,14% para los casos de embolismo moderado o grave acompañados de aspiración. Ambos factores vemos que empobrecen de forma significativa el pronóstico a pesar del tratamiento ya que la función pulmonar es de vital importancia para poder avanzar con la eliminación del nitrógeno.

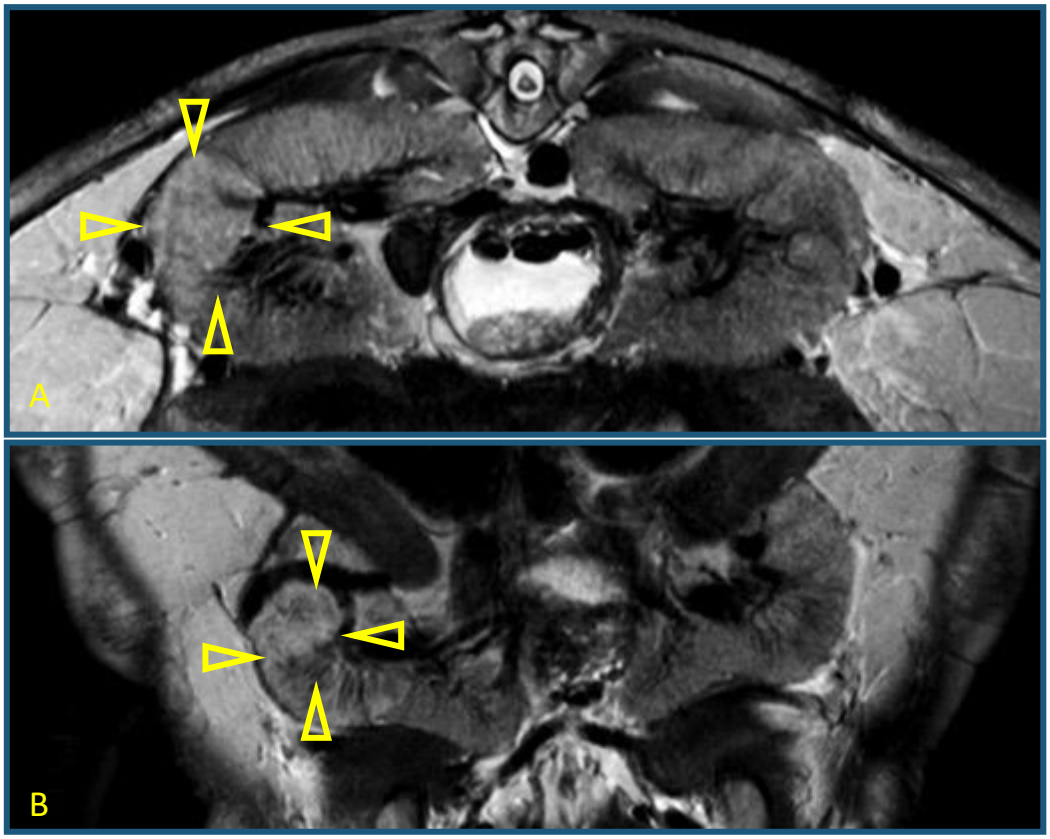


Figura 107: Imágenes de en T2 de RMN, sección transversal (A) y horizontal (B) de la región renal donde se puede apreciar una lesión de infarto por isquemia renal (flechas) en un animal que sufrió embolismo moderado y fue tratado con HBOT 3 semanas antes de esta adquisición. El animal se recuperó parcialmente del proceso, pero quedó parapléjico.

Recalcar que independiente de que con el tratamiento adecuado la inmensa mayoría de los individuos sobrevivieron, no es descartable la presencia de lesiones subletales en muchos de ellos. De hecho, trabajos preliminares con resonancia en unos pocos animales o incluso estudios histopatológicos en algunos casos que tuvieron que ser sacrificados tras varias semanas de haber sufrido el accidente descompresivo, pudieron evidenciar de forma preliminar, que efectivamente se pueden producir lesiones fundamentalmente a nivel cardiaco, renal, hepático y del sistema nervioso central en los animales supervivientes. Así, además de la mortalidad directa, esta enfermedad podría estar causando daños o lesiones con efectos y consecuencias desconocidas en las poblaciones de tortugas marinas a

través de la inducción de secuelas en los supervivientes tal y como se evidencia en estudios preliminares con resonancia, ecografía e histopatología en supervivientes.

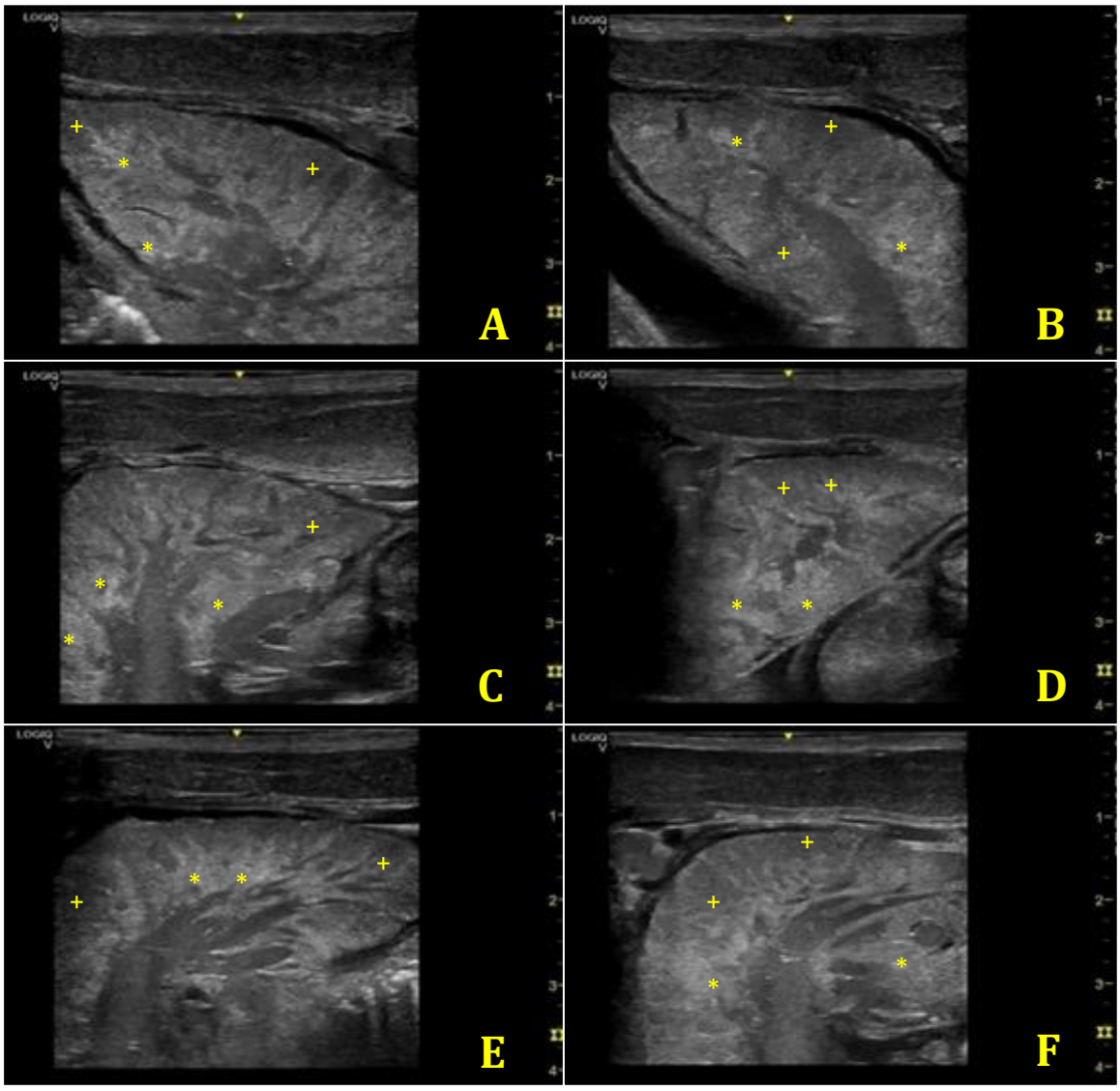


Figura 108: Imágenes ecográficas de 6 tortugas diferentes que han sufrido EG y se han recuperado clínicamente tras la terapia HBOT. Nótese como el parénquima renal tras el embolismo permanece libre de gas, pero se muestra muy heterogéneo con zonas más ecogénicas (*) y otras más hipoecogénicas (+). Imagen compatible con lesión renal aguda post isquémica. La ecografía en principio es una técnica mucho más sencilla de aplicar, económica y con menos afectación para el paciente que la resonancia.

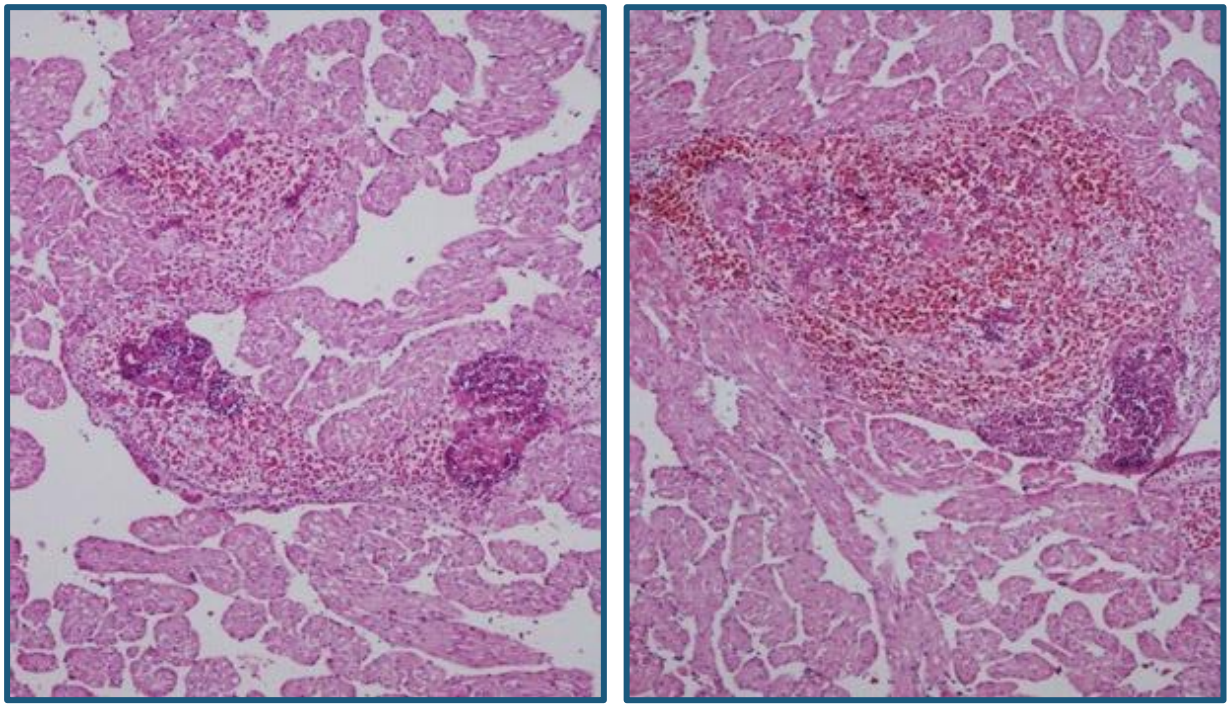


Figura 109: ***Imágenes histológicas del corazón de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de una lesión espinal permanente. Histológicamente el corazón muestra necrosis miocárdica y fenómenos reparativos asociados.***

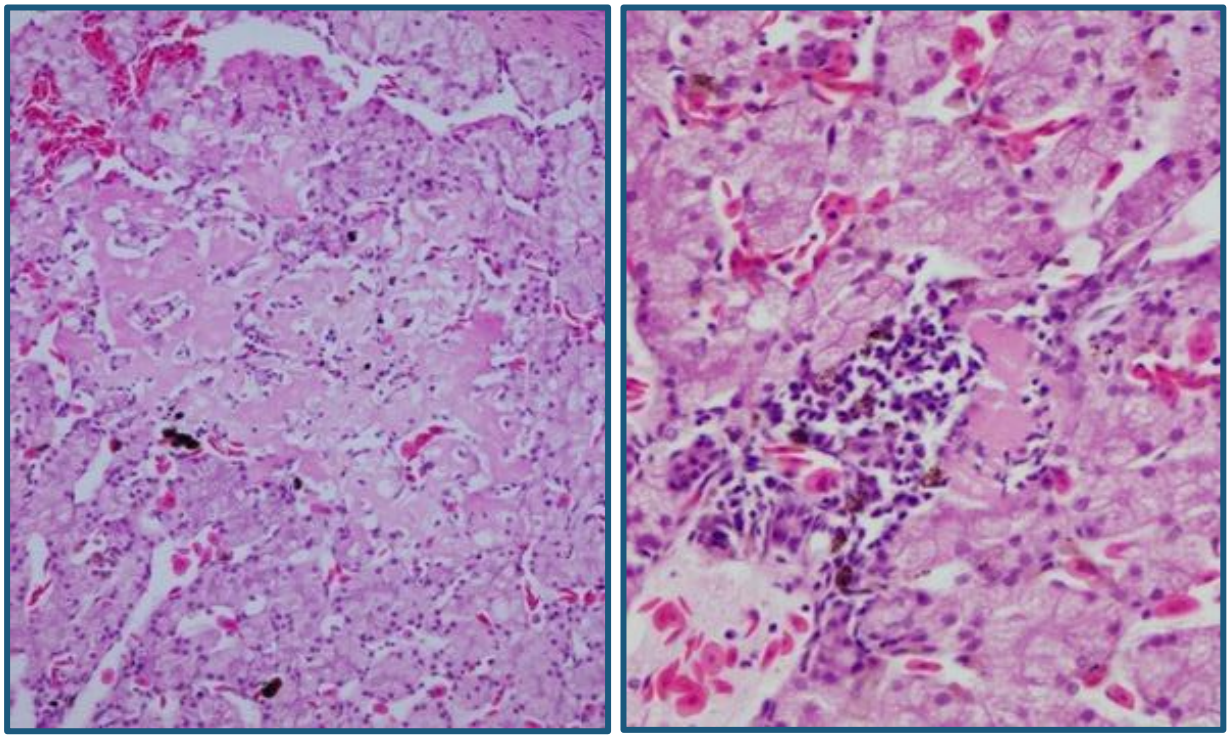


Figura 110: Imágenes histológicas del hígado de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de una lesión espinal permanente. Histológicamente el hígado muestra necrosis hepática por coagulación y fenómenos inflamatorios/ reparativos asociados.

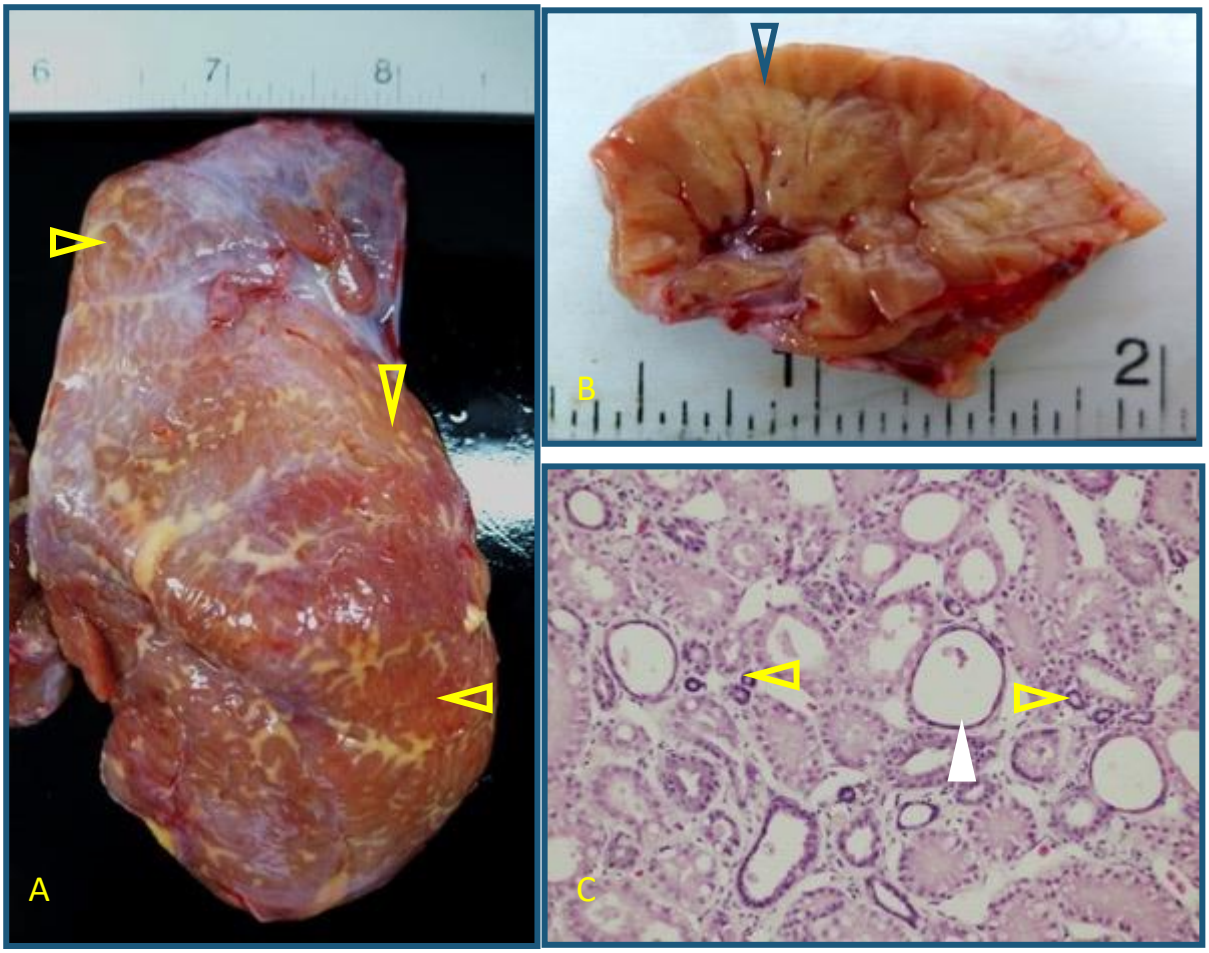


Figura 111: Imágenes de un riñón de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de una lesión espinal permanente. A. Macroscópicamente el riñón muestra zonas de palidez en su superficie (flechas) que se corresponden con posibles zonas de infarto/necrosis por isquemia. B) al corte estas zonas más pálidas profundizan en el parénquima (flecha). Estas lesiones también se evidenciaron mediante RMN (fig 108) en el mismo animal. C) Imagen histológica de una de estas zonas de afectación renal donde se ve degeneración de las células y dilatación de los túbulos renales (flecha blanca) así como posibles focos de nefropoiesis (flechas huecas amarillas).

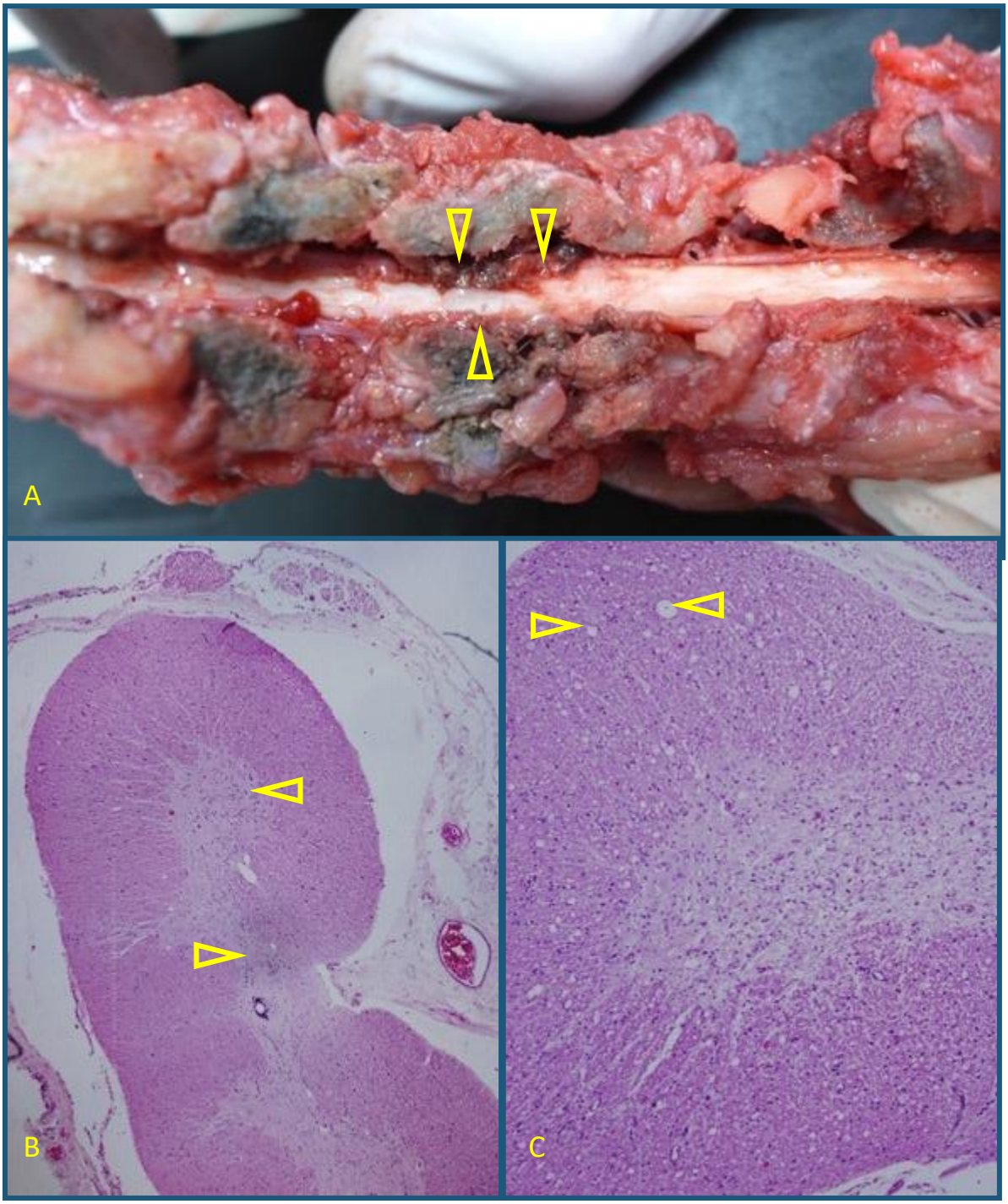


Figura 112: Imágenes de la médula espinal de un ejemplar de tortuga boba que sufrió EG moderado y se sometió a tratamiento HBOT. El animal sobrevivió al embolismo, pero tuvo que ser sacrificado 3 semanas después como consecuencia de esta lesión espinal. A. Macroscópicamente la médula y meninges asociadas mostraron una zona de congestión/hemorragia (flechas) que ya fue visible como zona de inflamación de la médula en RMN dos semanas antes en este mismo animal (fig 77). B) Imagen histológica a pocos aumentos donde se pueden apreciar focos de inflamación (mielitis) (flechas). C) Imagen histológica de la sección de médula afectada donde se puede apreciar la desmielinización y degeneración axonal (flechas) así como zonas de infiltración de células inflamatorias redondas.

IV – CONCLUSIONES

En este capítulo hemos recopilado los hallazgos más relevantes hasta la fecha en referencia al diagnóstico, tratamiento y pronóstico de esta nueva enfermedad en base a un recopilatorio de 249 casos de EG, 194 de los cuales llegaron vivos al CR.

En cuanto al diagnóstico, la técnica más sensible para detectar la presencia de burbujas de gas intravasculares fue la ecografía renal y cardiaca. Los riñones son una de las regiones que primero se ven afectadas por el embolismo y el último lugar de donde se suele eliminar el gas por lo que tienen gran valor diagnostico tanto en ecografía como en radiografía. Sin embargo, de cara a la cuantificación del gas patológico o el estudio de su distribución en el organismo el TC se reveló como la técnica ideal o en su defecto la radiografía simple en proyección DV, complementada por las imágenes LL y CC. En ausencia de ecografía y TC, la radiografía LL es la técnica más sensible para detectar los casos de embolismo leve.

Clínicamente, algunos parámetros analíticos sanguíneos pueden verse también alterados a la llegada al CR, pero generalmente sólo en los casos más severos de embolismo. En estos casos se suele observar un incremento del hematocrito, la hemoglobina o las proteínas plasmáticas como consecuencia de un fenómeno de hemoconcentración asociado al fallo circulatorio.

De cara al diagnóstico macroscópico *post mortem* del embolismo es también recomendable aplicar técnicas de imagen (fundamentalmente TC o radiografía simple) con el fin de poder detectar la presencia de gas patológico en el cadáver antes de su apertura, facilitando la interpretación de los hallazgos y orientando la búsqueda de burbujas y lesiones en diferentes vasos, órganos y tejidos. Los casos leves de embolismo muchas veces pueden pasar desapercibidos en la observación directa con una técnica de necropsia estándar. En los casos moderados y graves las burbujas son fácilmente identificables principalmente en vasos mesentéricos, así como en cámaras cardiacas incluyendo principalmente el atrio derecho y el seno venoso. Suelen también acompañar a la presencia de gas intravascular zonas de isquemia y congestión por impedimento de la circulación en múltiples órganos y tejidos incluyendo el riñón, el intestino o el hígado.

En cuanto al tratamiento, la terapia más eficaz de DCS en tortugas consiste en aplicar la terapia HBOT con oxígeno puro a un máximo de 2,8ATA durante periodos prolongados de 12 a 16h. En ausencia de cámara hiperbárica un tratamiento alternativo que también parece ser efectivo es la terapia con oxígeno normobárico en periodos largos de 24-48 y hasta 72h. La terapia específica consigue supervivencias por encima del 90% en los animales afectados.

Hay que considerar, que más allá de la supervivencia, las tortugas que sobreviven a la terapia pueden desarrollar lesiones subletales y secuelas como consecuencia de la isquemia y reperfusión posterior asociadas al embolismo. Estas lesiones se han podido evidenciar en algunos supervivientes mediante resonancia magnética, ecografía renal e histopatología.

V – BIBLIOGRAFÍA

Anderson, E.T., C.A. Harms, E.M. Stringer, and W.M. Cluse. 2011. Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (Chelonia mydas) in North Carolina, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 42:247-255.

Barratt, D.M., P.G. Harch, and K. Van Meter. 2002. Decompression illness in divers: a review of the literature. *The Neurologist* 8:186-202.

Barthelemy, L., A. Belaud, and C. Chastel. 1981. A comparative study of oxygen toxicity in vertebrates. *Respiration physiology* 44:261-268.

Becker, K., E.-W. Kienecker, and P. Dick. 1990. A contribution to the scientific assessment of degenerative and regenerative processes in peripheral nerve fibers following axonotmesis under the systemic administration of vitamins B1, B6 and B12-light and electron microscopy findings in the saphenous nerve of the rabbit. *Neurochirurgia* 33:113-121.

Bernaldo de Quirós, Y., O. Gonzales-Diaz, M. Arbelo, E. Sierra, S. Sacchini, and A. Fernández. 2012. Decompression versus decomposition: distribution, quantity and gas composition of bubbles in stranded marine mammals. . *Frontiers in Physiology* 3:1-19.

Bernaldo de Quirós, Y., O. González-Díaz, A. Møllerløkken, A.O. Brubakk, A. Hjelde, P. Saavedra, and A. Fernández. 2013a. Differentiation at autopsy between in vivo gas embolism and putrefaction using gas composition analysis. *International Journal of Legal Medicine* 127:437-445.

Bernaldo de Quirós, Y., Ó. González-Díaz, P. Saavedra, M. Arbelo, E. Sierra, S. Sacchini, P.D. Jepson, S. Mazzariol, G. Di Guardo, and A. Fernández. 2011. Methodology for in situ gas sampling, transport and laboratory analysis of gases from stranded cetaceans. *Scientific Reports* 1:193.

Bernaldo de Quirós, Y., J.S. Seewald, S.P. Sylva, B. Greer, M. Niemeyer, A.L. Bogomolni, and M.J. Moore. 2013b. Compositional Discrimination of Decompression and Decomposition Gas Bubbles in Bycaught Seals and Dolphins. *PLoS ONE* 8:e83994.

Bezjian, M., J.F. Wellehan Jr, M.T. Walsh, E. Anderson, and E. Jacobson. 2014. Management of wounds in a loggerhead sea turtle (Caretta caretta) caused by traumatic bycatch injury from the spines of a spotted eagle ray (Aetobatus narinari). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 45:428-432.

Chrisman, C.L., M. Walsh, J.C. Meeks, H. Zurawka, R. LaRock, L. Herbst, and J. Schumacher. 1997. Neurologic examination of sea turtles. *Journal-American Veterinary Medical Association* 211:1043-1047.

Cook, M., J.L. Reneker, R.W. Nero, B.A. Stacy, and D.S. Hanisko. 2020. Effects of freezing on decomposition of sea turtle carcasses used for research studies. *Fishery Bulletin* 118:268-275.

D'Agostino, R., and E.S. Pearson. 1973. Tests for departure from normality. Empirical results for the distributions of b 2 and√ b. *Biometrika* 60:613-622.

D'Agostino, R.B. 1971. An omnibus test of normality for moderate and large size samples. *Biometrika* 58:341-348.

Deem, S.L., T.M. Norton, M. Mitchell, A. Segars, A.R. Alleman, C. Cray, R.H. Poppenga, M. Dodd, and W.B. Karesh. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (Caretta caretta) along the coast of Georgia, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 45:41-56.

Dodge, Y. 2008. Spearman rank correlation coefficient. *The Concise Encyclopedia of Statistics. Springer, New York* 502-505.

Ferrigno, M., and C.E.G. Lundgren. 2003. Breath-Hold Diving. In Physiology and Medicine of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 153-180.

Fix, S.M., M.A. Borden, and P.A. Dayton. 2015. Therapeutic gas delivery via microbubbles and liposomes. *Journal of Controlled Release* 209:139-149.

Flint, M., J. Patterson-Kane, P. Mills, and C. Limpus. 2009. A veterinarian's guide for sea turtle post mortem examination and histological investigation. In The University of Queensland, Brisbane, Australia.

Franchini, D., C. Valastro, S. Ciccarelli, P. Trerotoli, S. Paci, F. Caprio, A. Lucchetti, and A. Di Bello. 2021. Gas Embolism Assessment in Sea Turtles: Predictors of Mortality for the Deadliest Pathology related to Trawling. *Pre-Print*

Francis, T.J.R., and S.J. Mitchell. 2003. Manifestations of decompression disorders. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 578-599.

Francis, T.J.R., and J.M. Simon. 2003. Pathology of Decompression Sickness. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 530-556.

García-Párraga, D., and J.L. Crespo-Picazo. 2019. Decompression Medicine in Aquatic Species (Fish and Sea Turtle Focus). In Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9. Elsevier, 345-355.

García-Párraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y. Bernaldo de Quirós, V. Cervera, L. Martí-Bonmati, J. Díaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernández. 2014. Decompression Sickness ("the bends") in Sea Turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 111:191-205.

Gawthrope, I.C., M. Summers, D.J. Macey, and D.A. Playford. 2015. An observation of venous gas emboli in divers and susceptibility to decompression sickness. *Diving Hyperb Med* 45:25-28.

Germonpre, P., P. Dendale, P. Unger, and C. Balestra. 1998. Patent foramen ovale and decompression sickness in sports divers. *Journal of Applied Physiology* 84:1622-1626.

Gröber, U., K. Kisters, and J. Schmidt. 2013. Neuroenhancement with vitamin B12—underestimated neurological significance. *Nutrients* 5:5031-5045.

Harms, C., A. Valente, B. Stacy, and J. Wyneken. 2017. Nervous System. In Sea Turtle Health & Rehabilitation. C. Manire, T. Norton, B. Stacey, C. Innis, and C. Harms, editors. J.Ross Pub, 417-438.

Innis, C.J., C. Merigo, J.M. Cavin, K. Hunt, K.L. Dodge, and M. Lutcavage. 2014. Serial assessment of the physiological status of leatherback turtles (Dermochelys coriacea) during direct capture events in the northwestern Atlantic Ocean: comparison of post-capture and pre-release data. *Conservation physiology* 2:

James, P.B., and K. Jain. 2017. Decompression sickness. In Textbook of Hyperbaric Medicine. Springer, 101-120.

Kennedy, A., C. Innis, and W. Rumbeiha. 2012. Determination of glomerular filtration rate in juvenile Kemp's ridley turtles (Lepidochelys kempii) using iohexol clearance, with preliminary comparison of clinically healthy turtles vs. those with renal disease. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 22:25-29.

Knight, B. 1996. Dysbarism and barotrauma. In Forensic Pathology. Arnold, editor London.

Kruskal, W.H., and W.A. Wallis. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association* 47:583-621.

Levett, D., and I. Millar. 2008. Bubble trouble: a review of diving physiology and disease. *Postgraduate medical journal* 84:571-578.

Litscher, G. 2010. Ten Years Evidence-Based High-Tech Acupuncture Part 3: A Short Review of Animal Experiments. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 7:151-155.

Lonati, G.L., A.J. Westgate, D.A. Pabst, and H.N. Koopman. 2015. Nitrogen solubility in odontocete blubber and mandibular fats in relation to lipid composition. *Journal of Experimental Biology* 218:2620-2630.

Mahon, R.T., and D.P. Regis. 2014. Decompression and decompression sickness. *Comprehensive Physiology* 4:1157-1175.

Mann, H.B., and D.R. Whitney. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics* 50-60.

Møllerløkken, A., S.L. Blogg, D.J. Doolette, R.Y. Nishi, and N.W. Pollock. 2016. Consensus guidelines for the use of ultrasound for diving research. *Diving and hyperbaric medicine* 46:26-32.

Nemenyi, P. 1963. Distribution-free mulitple comparisons PhD thesis Princeton University Princeton. In NJ.

Norton, T.M. 2005. Chelonian emergency and critical care. In Seminars in avian and exotic pet medicine. Elsevier, 106-130.

Okada, K., H. Tanaka, K. Temporin, M. Okamoto, Y. Kuroda, H. Moritomo, T. Murase, and H. Yoshikawa. 2010. Methylcobalamin increases Erk1/2 and Akt activities through the methylation cycle and promotes nerve regeneration in a rat sciatic nerve injury model. *Experimental neurology* 222:191-203.

Papadopoulou, V., S. Evgenidis, R.J. Eckersley, T. Mesimeris, C. Balestra, M. Kostoglou, M.-X. Tang, and T.D. Karapantsios. 2015. Decompression induced bubble dynamics on ex vivo fat and muscle tissue surfaces with a new experimental set up. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 129:121-129.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Garcia-Parraga, B. Stacy, and C. Harms. 2017. Fisheries and sea turtles. In Sea Turtle Health and Rehabilitation C. Manire, TM Norton, BA Stacy, CJ Innis & CA Harms editor J Ross Publishing, Plantation, FL, USA. 859-897.

Plattner, T., M.J. Thali, K. Yen, M. Sonnenschein, C. Stoupis, P. Vock, K. Zwygart-Brugger, T. Kilchor, and R. Dirnhofer. 2003. Virtopsy-postmortem multislice computed tomography (MSCT) and magnetic resonance imaging (MRI) in a fatal scuba diving incident. *Journal of forensic sciences* 48:1347-1355.

Pollock, N.W. 2007. Use of ultrasound in decompression research. *Diving and Hyperbaric Medicine - South Pacific Underwater Medicine Society* 37:68.

Portugues, C., J.L. Crespo-Picazo, D. García-Párraga, J. Altimiras, T. Lorenzo, A. Borque-Espinosa, and A. Fahlman. 2018. Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Conservation physiology* 6:cox074.

Riess, J.G. 2005. Understanding the fundamentals of perfluorocarbons and perfluorocarbon emulsions relevant to in vivo oxygen delivery. *Artificial cells, blood substitutes, and biotechnology* 33:47-63.

Shapiro, S.S., and M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591-611.

Stacy, N., and C. Innis. 2017. Clinical Pathology. In Sea Turtle Health and Rehabilitation. Plantation, FL: J. Ross Publishing. 147-207.

Swanson, E.J., V. Mohan, J. Kheir, and M.A. Borden. 2010. Phospholipid-stabilized microbubble foam for injectable oxygen delivery. *Langmuir* 26:15726-15729.

Tibbles, P., and J. Edelsberg. 1996. Hyperbaric-Oxygen Therapy. *The New England Journal of Medicine* 334:1642-1648.

Valente, A., M. Parga, Y. Espada, S. Lavin, F. Alegre, I. Marco, and R. Cuenca. 2007. Ultrasonographic imaging of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Veterinary Record* 161:226-232.

Vann, R.D., F.K. Butler, S.J. Mitchell, and R.E. Moon. 2011. Decompression illness. *The Lancet* 377:153-164.

Varlet, V., F. Smith, N. Giuliani, C. Egger, A. Rinaldi, A. Dominguez, C. Chevallier, C. Bruguier, M. Augsburger, and P. Mangin. 2015. When gas analysis assists with postmortem imaging to diagnose causes of death. *Forensic science international* 251:1-10.

Wyneken, J., K.J. Lohmann, and J.A. Musick. 2013. The Biology of Sea Turtles, Volume III. CRC Press, Boca Raton, FL.



CAPÍTULO 3

Estudio del impacto de la enfermedad en las poblaciones de tortugas marinas

VII- CAPÍTULO 3: ESTUDIO DEL IMPACTO DE LA ENFERMEDAD EN LAS POBLACIONES DE TORTUGAS MARINAS

I – INTRODUCCIÓN

El presente capítulo se plantea en base a las evidencias previas aportadas por nuestro grupo de investigación, de que las tortugas sumergidas de forma forzada durante su atrapamiento en aparejos de pesca podrían no solo ahogarse sino también llegar a desarrollar EG y DCS (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Garcia-Parraga et al., 2017). De acuerdo con algunos estudios preliminares, el proceso de descompresión en las tortugas se produciría como consecuencia de una mayor actividad en un intento de liberarse del aparejo y de una inducción simpática que llevaría a una liberación de catecolaminas e incremento del gasto cardiaco y de la perfusión pulmonar. Esto a su vez incrementaría la difusión de nitrógeno contenido en los pulmones a la sangre y de ahí hacia el resto de los diferentes tejidos, proceso que se vería facilitada en medio hiperbárico (García-Párraga et al., 2018a; García-Párraga et al., 2018b; Garcia-Parraga et al., 2017). Con el atrapamiento prolongado en profundidad y la estimulación traumática producida durante el arrastre, se podría solubilizar y acumular suficiente nitrógeno en los tejidos como para generar un grado de EG tal, que pudiese ocasionar daños en el animal llevándolo incluso a una muerte retardada (Fahlman et al., 2017a; García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017).

La susceptibilidad a la DCS en tortugas marinas y la falta de consideración hasta el momento de esta nueva enfermedad como fuente de mortalidad, implicaría que las estimaciones actuales del impacto poblacional causado por pesquerías en las tortugas pudieran ser muy inferiores a las reales. Esta información sobre el posible impacto de la enfermedad en condiciones reales de campo y sobre cuáles son los factores asociados a la pesca que condicionan la presencia y severidad del embolismo es por tanto de gran trascendencia de cara al establecimiento de nuevas estrategias de mitigación para la conservación de las poblaciones de tortugas y es el objetivo principal de este tercer capítulo de mi Tesis Doctoral. Así, en este capítulo se aborda la obtención de datos reales y actualizados sobre el impacto de la enfermedad en capturas accidentales de tortugas marinas en las pesquerías de arrastre y la mortalidad post-interacción asociada al EG y la DCS en condiciones reales de campo (con animales

que son rápidamente devueltos al agua sin aplicación de tratamientos) y a una escala más global. Para ello además de los trabajos llevados a cabo en la Comunidad Valenciana, llevamos a cabo estudios en otra zona del Mar Mediterráneo en la región de Puglia (Italia) y en el Océano Atlántico Sur en la región de Rio Grande do Sul (Brasil). El principal motivo para elegir estas dos ubicaciones fue que a diferencia de lo que sucede en la Comunidad Valenciana, la probabilidad de capturar tortugas en barcos arrastreros en esta zona es muy alta y el interés principal de nuestro trabajo era precisamente evaluar el comportamiento de la enfermedad y la supervivencia real a bordo de buques pesqueros y durante las primeras etapas cuando no hay opciones reales de tratamiento pero el animal tiene posibilidades de sumergirse por sí mismo de forma prácticamente inmediata tras su devolución al agua. Este es de hecho el escenario más probable para las capturas a escala mundial. Con este fin, los investigadores tenían que estar embarcados en el momento en el que los animales se recuperasen del aparejo y esto hacía necesario elegir destinos donde la probabilidad de interacción fuese muy alta con el fin de poder acceder al máximo número de casos posibles.

Este capítulo sobre los posibles impactos de la enfermedad en las poblaciones de tortugas se ha subdividido a su vez en 3 apartados relacionados entre sí, pero que presentan diferencias sustanciales en cuanto a la aproximación de estudio:

A. **Evaluación del impacto global de la DCS en pesquerías de la Comunidad Valenciana y establecimiento de los factores de riesgo asociados a la enfermedad.** En este caso, tal y como hemos venido viendo en los capítulos anteriores, las tortugas se reciben horas después de su captura y se evalúan y tratan en nuestro CR. Esta tipología de manejo condiciona los resultados en cuanto a la capacidad de detección de la enfermedad o la supervivencia, por lo que no es necesariamente directamente extrapolable a lo que sucede con las tortugas capturadas accidentalmente a escala mundial y que se devuelven inmediatamente al mar. Sí es cierto que el análisis de los datos epidemiológicos a lo largo de estos 20 años puede ofrecer información relevante sobre la enfermedad en referencia a unas pesquerías y unas circunstancias muy concretas. Se pretende estudiar la información recabada para calcular parámetros epidemiológicos tales como la incidencia de enfermedad o la mortalidad en los ingresados de esta región y su asociación a factores como la profundidad y tiempos de calado, la temperatura del agua, la gravedad del embolismo, o la tasa de éxito en la recuperación entre otros. En este sentido, hicimos un trabajo inicial en 2017 (Fahlman et al., 2017a) a partir de los primeros 128 casos de pesca accidental en Comunidad Valenciana en los que se aplicaron modelos de regresión logística y ordinal, y desarrollamos un modelo estadístico para predecir el riesgo de sufrir la enfermedad (en sus distintos grados) en base a la profundidad de calado. En el trabajo se demuestra que la profundidad de calado es un factor crítico asociado con el riesgo de descompresión y la gravedad

del embolismo. Curiosamente, esta asociación directa entre profundidad y severidad nunca se había podido demostrar antes en ninguna especie buceadora. Nuestro estudio del 2017 a pesar de no encontrar significatividad en base a la muestra estudiada de otros factores como el tamaño de las tortugas (LCC) o la temperatura del agua con el riesgo de desarrollar EG, ponía de manifiesto la importancia de seguir avanzando en este sentido dadas las implicaciones que tienen estos factores en el desarrollo de la DCS en otros modelos animales (Berghage et al., 1979; Fahlman, 2017; Lillo et al., 2002; Robinson et al., 1983) .

En este trabajo de Tesis Doctoral hemos querido incluir además los resultados del análisis estadístico de la muestra ampliada a los 435 casos con el fin de intentar detectar nuevos factores con significatividad para el desencadenamiento de la enfermedad, la severidad del embolismo o la mortalidad en las pesquerías de nuestra región.

B. **Evaluación del impacto de la DCS en condiciones de campo a bordo de buques pesqueros.** En este apartado tratamos de medir el verdadero impacto de la enfermedad (fundamentalmente la incidencia de enfermedad, la severidad y la tasa de supervivencia en los afectados) en condiciones de campo donde los animales capturados generalmente son directamente devueltos al mar sin posibilidad de tratamiento. Los tiempos de superficie tras la descompresión, las técnicas de diagnóstico y las estimaciones de la supervivencia mediante el marcado satelital, suponen una aproximación metodológica muy diferente con respecto a los trabajos del primer bloque (A) en CR, de ahí la importancia en tratar la información por separado. Asimismo, estos trabajos a bordo de buques pesqueros sirven para evidenciar la presencia de enfermedad fuera de la Comunidad Valenciana con el fin de verificar si se trata de una problemática de ámbito local o mundial. En referencia a este apartado ya participamos en 2020 en un trabajo que recopila una serie de 28 casos evaluados en aguas de Brasil (Parga et al., 2020), dejando en evidencia el elevado impacto poblacional sobre las tortugas asociado a esta enfermedad de algunas pesquerías fuera de la Comunidad Valenciana. El actual trabajo de Tesis Doctoral completa estos datos iniciales de Brasil porque además incluye en relación con este objetivo, información epidemiológica adicional aún pendiente de publicar sobre 34 nuevos casos estudiados a bordo de buques arrastreros en el Adriático (al sur de Italia), con la misma metodología que se empleó en el trabajo previo en el Atlántico Sur. Así, los datos generados en las diversas campañas pesqueras se analizarán en su conjunto para un mayor aprovechamiento de la información y significación estadística.

C. **Impacto de la DCS en las diferentes especies de tortugas.** En referencia a este último bloque tratamos de discriminar en base a toda la información recabada a lo largo de estos años, si la DCS se circunscribe a las tortugas bobas (siendo esta la especie donde inicialmente se realizaron todos

los estudios descriptivos), o si por el contrario otras especies de tortugas también pueden verse afectadas. Incluimos en este apartado la información que publicamos recientemente proporcionando evidencias sobre la presencia de EG en 3 nuevas especies de tortugas: tortuga verde (*Chelonia mydas*), la olivácea o golfina (*Lepidochelys olivacea*) y la laúd (*Dermochelys coriacea*) poniendo de relieve el posible alcance de la enfermedad para las diferentes poblaciones de tortugas a nivel global (Crespo-Picazo et al., 2020).

II – MATERIALES Y MÉTODOS

A –EVALUACIÓN DEL IMPACTO GLOBAL DE LA DCS EN PESQUERÍAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA Y ESTABLECIMIENTO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD

El presente apartado parte de la misma metodología clínica desarrollada en el primer capítulo y publicada en nuestra publicación de referencia (García-Párraga et al., 2014). Esta misma metodología fue entonces aplicada a la misma población completa estudiada en el capítulo anterior a lo largo de los 10 años de estudio para el establecimiento de las bases diagnósticas y terapéuticas de la enfermedad a nivel individual (ver metodología Capitulo 2). En este caso, más allá de los hallazgos clínicos, el objetivo es el de obtener información epidemiológica de la enfermedad y su posible impacto a nivel poblacional.

A.1- RECOGIDA DE DATOS

Como hemos venido viendo, a lo largo de los 10 años de estudio se evaluaron 435 casos procedentes de pesquerías en los que se recabó la siguiente información clínica del individuo: especie de tortuga, LCC (cm), peso (kg), presencia de embolismo y gradación de la severidad (en base a la metodología anteriormente expuesta categorizando a todos los animales como sin embolismo o con embolismo leve, moderado o severo), evidencia de aspiración de agua de mar (si/no), condición al ingreso (vivo/muerto), aplicación de tratamiento hiperbárico (si/no), muerte en el centro de recuperación (si/no). Además de la información clínica referente al animal, en todos los casos en los que fue posible se trató de registrar la máxima información posible asociada al caso incluyendo: fecha de captura, lugar de captura, tipo de pesquería, profundidad de calado del aparejo o la duración de arrastre o calado del arte. De forma complementaria como una variable ambiental adicional se registró para cada animal entregado la temperatura diaria de la superficie del mar en el puerto de origen de los barcos pesqueros, o en base a la fecha y puerto de entrada, se miraron los registros de las temperaturas medias en las diferentes fechas y las diferentes zonas de acuerdo con SeaTemperature (www.seatemperature.org ; visitada el 12 de abril de 2021).

A.2- ANÁLISIS DE DATOS

Las variables estudiadas en el análisis univariante frente a la severidad del embolismo y la mortalidad fueron: la presencia de aspiración de agua de mar, el tipo de pesquería de origen, la provincia de procedencia, el tiempo de calado, la temperatura del agua, la profundidad de calado, el peso y la longitud en curvo del caparazón (LCC).

En la preparación de la base de datos, se realizó en primer lugar un proceso de reagrupación de variables y niveles, homogenización de los datos y análisis de completitud, seguido de un análisis descriptivo de las variables, tanto visual como numérico: frecuencia absoluta y relativa en el caso de variables categóricas; frecuencia, media, desviación estándar, mínimo, máximo, y percentiles (25, 50 y 75) en el caso de variables cuantitativas. De forma retrospectiva dividimos a los pacientes en 4 grupos según la gravedad de la enfermedad (p. ej.: sin embolismo, leve, moderada o severa) y posteriormente la misma muestra se dividió en 2 grupos según el resultado final de muerte ya fuera al ingreso o durante el proceso de recuperación (p. ej.: sobrevive o muere). Hemos de recalcar en estos casos de la Comunidad Valenciana que, a diferencia del apartado siguiente en estudios a bordo de buques pesqueros, todos los animales que llegaron vivos al CR recibieron tratamiento (en la mayoría de los casos a partir del 2014, tratamiento específico HBOT para DCS en caso de tener signos de EG) lo que de algún modo se estima incrementó mucho la supervivencia.

Posteriormente, con el fin de poder evaluar qué factores podrían verse asociados a la aparición de la DCS y sus diferentes grados de severidad, se utilizaron las bases de datos ya procesadas para realizar diferentes análisis estadísticos:

- Para analizar la asociación de diferentes variables categóricas con la mortalidad total, la presencia de EG y la severidad de EG se empleó la prueba de chi cuadrado (Pearson, 1900).
- La condición de normalidad de las variables cuantitativas se determinó mediante los métodos Shapiro (Shapiro and Wilk, 1965) y D'Agostino (D'Agostino and Pearson, 1973; D'Agostino, 1971).
- La asociación de variables cuantitativas con la mortalidad total y la presencia de EG se analizó mediante la prueba de Mann-Whitney (Mann and Whitney, 1947).
- Para estudiar la asociación entre variables cuantitativas y la severidad de EG se utilizó el test de Kruskal-Wallis (Kruskal and Wallis, 1952), seguido de un análisis post hoc de las variables que resultaron significativas (Nemenyi, 1963).
- Finalmente, el grado correlación entre las distintas variables se determinó mediante el método Spearman (Dodge, 2008).

En todos los casos se determinó que un resultado es significativo si el valor p obtenido es menor que 0.05.

Tanto el procesado de la base de datos como los análisis estadísticos se realizaron mediante el software Spyder (v4.1.4) con la versión 3.8.3 de Python y los paquetes pandas (v1.0.5), numpy (v1.18.5), scipy (v1.5.0) y matplotlib (v3.2.2).

Tras el análisis univariante para ver que variables se relacionaban con la mortalidad y el riesgo de padecimiento de la enfermedad, se realizó un análisis discriminante multivariante de los datos para ver si combinaciones de diferentes variables podrían influir de diferente manera. Para ello se empleó el programa estadístico SPSS (v25). Este tipo de análisis estadístico se emplea en biomedicina para predecir una variable categórica a partir de otras variables ya sean categóricas o continuas (Huberty, 2005).

Las variables estudiadas a través del análisis discriminante para la gravedad y la mortalidad fueron: longitud en curvo del caparazón (LCC) (como referencia para poder establecer la posible influencia del tamaño de la tortuga), duración de calado del arte, profundidad de calado, temperatura del agua y la presencia de signos clínicos compatibles con aspiración de agua de mar.

Se realizaron entonces análisis ANOVA y de tablas de contingencia para revelar qué variables presentaban diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados, así como para en su caso, poder construir las funciones discriminantes que nos pudiesen ayudar a predecir objetivamente la severidad o resultado final de la enfermedad a futuro como leve/moderada/severa o bien vive/muere en base a los factores estudiados.

B –EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA DCS EN CONDICIONES DE CAMPO A BORDO DE BUQUES PESQUEROS

B.1- CONDICIONES DE CAPTURA

Dentro de cada una de las campañas de investigación, los viajes (vuelos y el transporte local) tanto en Brasil como en Italia se organizaron en función de las condiciones climáticas y las recomendaciones de las ONG locales (NEMA, Projeto Tartarugas No Mar en Brasil y ONG WWF Molfetta en Italia) basadas en las tasas de captura accidental de tortugas en años anteriores.

Para el estudio en Italia se realizaron finalmente un total de 6 salidas a lo largo de los meses más fríos del año (enero y febrero) de 2018, 2019 y 2020 a bordo de tres arrastreros de fondo de la flota de Bisceglie (41º 14’ 27,36" N; 16º 30’ 7,42" E) en el sur del mar Adriático. Los buques pesqueros colaboradores fueron: Argonauta, Francesco Padre y Angela Madre. Los arrastreros eran muy similares a los que faenan en Comunidad Valenciana y las salidas se fueron confirmando en base a las condiciones meteorológicas, la cumplimentación de los trámites para los permisos, la disponibilidad de espacio en los barcos de pesca y el número medio de tortugas capturadas accidentalmente por semana tratando de coincidir con el mayor numero posible de capturas por embarque.



Figura 113: Configuración de redes en la cubierta antes del primer lance. Buques arrastreros: Francesco Padre (izquierda), Argonauta (derecha) en los que se realizó el estudio en aguas del Adriático.

El apoyo logístico en la zona y la información local necesaria, lo proporcionaron los pescadores y la red de varamientos gestionada por la ONG WWF Molfetta. El equipo veterinario se mantuvo a bordo de los barcos de pesca durante un total de 24 días a lo largo de 6 semanas diferentes, realizando un total

de 80 lances de arrastre. Una vez que el buque salía del puerto, las operaciones de pesca comenzaban en torno a las diez de la noche del domingo, cuando las redes de pesca se calaban por primera vez. Cada lance del arrastre tenía, en el caso de Italia, una duración constante de alrededor de 4,5 horas, con un ciclo de calado y recogida del aparejo cada 5 horas aproximadamente que se repetía de continuo durante las 24 horas del día. El equipo evaluó un total de 36 tortugas bobas capturadas durante el período contemplado por el proyecto. Se capturaron 24 tortugas en el mismo barco donde se encontraba el equipo veterinario, mientras que las 12 tortugas restantes fueron capturadas por otros barcos colaboradores (generalmente en el último lance antes de llegar al puerto), siendo entregadas al equipo científico ya en el muelle. Así, no todas las tortugas pescadas accidentalmente por los otros dos barcos colaboradores en este estudio fueron transferidas al equipo científico, sino que la mayoría fueron devueltas directamente. Las 12 tortugas entregadas fueron únicamente las que capturaron en el ultimo lance antes de llegar a puerto, reteniendolas en cubierta sólo unas horas para entregarnoslas y poder incluirlas en el estudio.



Figura 114: Recogida de tortugas capturadas por otros barcos colaboradores para su entrega en puerto.



Figura 115: Participación de pescadores en el trabajo del proyecto de investigación con tortugas. El apoyo del personal a bordo fue fundamental para poder completar las acciones previstas

Para el trabajo de Brasil completamos 6 viajes de pesca, en este caso 4 durante el verano-otoño austral (en enero y en abril de 2017, y en febrero y abril de 2019) y 2 durante el invierno austral (julio, agosto y septiembre de 2018) capturando un total de 28 tortugas entre todas las salidas. El estudio en aguas de Brasil se llevó a cabo en colaboración con una pesquería de arrastre en profundidad por pares que opera en aguas exteriores de la costa de Rio Grande do Sul, al sur de Brasil. En este tipo de pesca, dos barcos de arrastre traccionan simultáneamente de una sola red a lo largo del lecho marino. Las pesquerías de Brasil también faenaron de día y de noche y durante todo el año, pero en este caso la captura accidental de tortugas marinas se produce durante todo el año (con un rango de 2-15 animales por viaje). En el Adriático sin embargo el período pico de captura accidental de tortugas marinas cubre principalmente los meses fríos, generalmente de noviembre a marzo (Casale, 2011). El número de capturas puede ser alto, con tortugas capturadas casi todos los días, con una especial incidencia en diciembre y enero. Los pescadores italianos nos reportaron que observaban variaciones en las capturas de tortugas entre los diferentes años, aparentemente relacionadas con la temperatura del agua; cuanto menor fue la temperatura, mayor número de interacciones con tortugas.

La tortuga boba era la especie capturada con mayor frecuencia por ambas pesquerías aunque en el caso de Brasil, la tortuga verde (*Chelonia mydas*), la olivácea o golfina (*Lepidochelys olivacea*) y la laúd (*Dermochelys coriacea*) también se capturan ocasionalmente (Monteiro et al., 2013). Ninguna de estas pesquerías emplea dispositivos de exclusión de tortugas (TED) los cuales tampoco son requeridos por la legislación brasileña, italiana o europea (tampoco la española).



Figura 116: Dos de los barcos pesqueros de arrastre que participaron en el estudio.

En relación con las capturas, los parámetros ambientales asociados al lance que se registraron a bordo fueron: hora a la que se caló la red, la profundidad (reportada por el barco) y duración del arrastre, tiempo transcurrido en superficie hasta el primer examen, tiempo transcurrido en superficie hasta la liberación, la temperatura del agua (reportada por el barco), y posición GPS del barco en el momento de la captura (reportada por el barco).



Figura 117: Zona donde operó la flota pesquera italiana durante el periodo de estudio. Asterisco: Puerto de Bisceglie. Contorno amarillo: región de Puglia. Zona marítima rayada en rojo: zona de pesca donde se llevó a cabo el estudio.

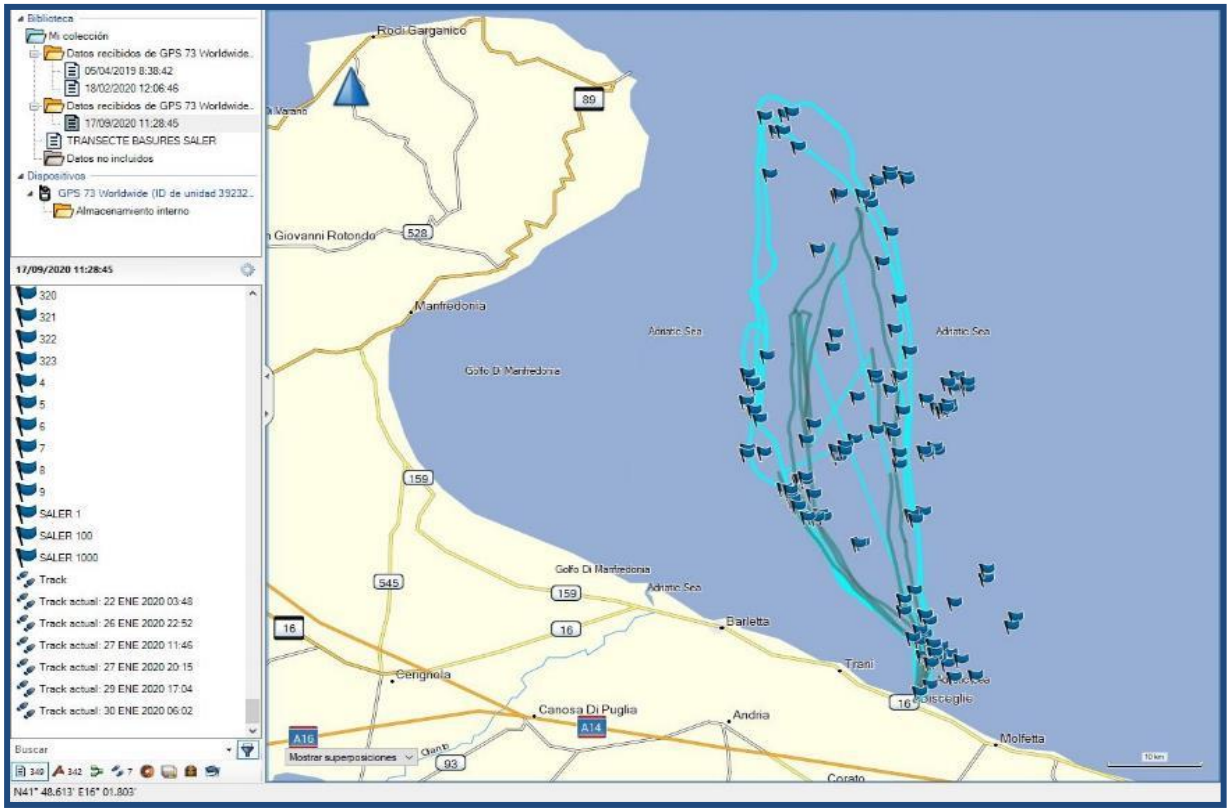


Figura 118: Trayectos cubiertos por dos de los barcos involucrados en la campaña en Italia durante enero y febrero del 2020. Línea azul claro: Argonauta; línea oscura: Francesco Padre. Los puntos marcados con la bandera fuera de la línea de unión corresponden a ubicaciones de pesca durante la campaña anterior (2019).

Es importante destacar que en todos los estudios de campo llevados a cabo, en ningún caso, los animales empleados fueron capturados o sacrificados intencionadamente con el objeto de este trabajo. En concreto el trabajo de campo para el estudio del impacto de las pesquerías en Brasil y en Italia fue diseñado por nuestro equipo como veterinarios especializados en tortugas marinas, y se ejecutó por veterinarios y biólogos marinos cualificados y debidamente entrenados para la atención de estos animales. Los protocolos de manejo de tortugas a bordo se basaron en el Manual de Técnicas de Trabajo para la Investigación en Tortugas Marinas publicado por el NMFS de USA (Stokes et al., 2008). Los trabajos se llevaron a cabo bajo el permiso de investigación 15962-6 y 15962-7 emitido por el Gobierno Brasileño y la aprobación del Marine Turtle Conservation Act, así como por el Ministerio de Medio Ambiente y a la Guardia Costera de Italia para poder trabajar con especies protegidas y podernos embarcar en los barcos de pesca colaboradores durante el período de trabajo. También se contó con la aprobación del Comité de Cuidado y Bienestar Animal de la Fundación Oceanogràfic (acreditado como Órgano Habilitado por la Consellería de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia

Climática y Transición Ecológica) bajo la autorización OCE-6-17 para la evaluación y el marcaje de los animales tanto en el caso de Italia como en el de Brasil.

Para el estudio italiano, se estableció una colaboración muy estrecha con diferentes socios en la zona con los cuales se fueron acordando las diferentes campañas. Estos socios incluían: la Universidad de Pisa (Dr. Paolo Casale), la ONG WWF Molfetta, así como la comunidad local de pescadores de Bisceglie.

B.2- EVALUACIÓN CLÍNICA DE LAS TORTUGAS MARINAS

Una vez se detectaba una tortuga en las redes de pesca, se registraba toda la información ambiental asociada previamente mencionada en el apartado anterior.

En primer lugar, siempre se llevó a cabo una exploración clínica general que incluyó un examen físico general rutinario, identificación de la especie, la medición de la longitud del caparazón en curvo (LCC), un examen neurológico, y un estudio ecográfico general [General Electric Logiq e Vet 5.2 con sonda lineal (12 LRS) y microconvex (8CRS)]. Las exploraciones tuvieron lugar tan pronto las tortugas fueron accesibles en cubierta. En el caso de Brasil las tortugas fueron mantenidas a bordo y fueron supervisados durante un total de 2 horas antes de su devolución al mar (los que se consideraron liberables), mientras que, en el caso de Italia, los animales se mantuvieron a bordo sólo lo indispensable, entre 1 y 2 horas post captura para garantizar todos los exámenes y el curado de la resina que servía para fijar el emisor. Adicionalmente, se incluyeron en el estudio los ejemplares capturados por otros barcos colaboradores del grupo de pesca, y estos sí permanecieron en cubierta bastantes más horas antes de ser transferidos al buque donde se encontraba el veterinario. Todos los tiempos de permanencia en superficie desde la captura hasta la liberación fueron registrados categorizando a las tortugas en 4 grupos:

- Grupo 1: liberadas en torno a una hora y hasta 1,5h tras la captura.
- Grupo 2: liberadas y/o muertas entre 1,5 y 3 horas post-captura.
- Grupo 3: liberadas y/o muertas entre 3 y 7 horas tras la captura
- Grupo 4: liberadas y/o muertas tras más de 7 horas post captura.

Los animales de Brasil también fueron agrupados en base a estos criterios, pero al ser todos los ejemplares retenidos de forma sistemática al menos 2 horas y no haber tanta transferencia entre buques, la mayoría de los animales (n=28) en este caso entraron en el grupo 2 (n=26) y solo 2 ejemplares se incluyeron en el grupo 3.

Inicialmente se llevó a cabo un estudio ecográfico en el menor tiempo posible tras la captura, en todos los especímenes en los que fue posible para evaluar la presencia o ausencia de gas intravascular (embolia gaseosa) como consecuencia del evento descompresivo. Para ello se emplearon los accesos

a través de las ventanas acústicas de la zona cervical lateral y ventral, la zona axilar y la fosa inguinal (prefemoral) siguiendo la propuesta de ventanas ecográficas de Valente et al. (2007). Para una mejor evaluación de la cantidad, distribución y la evolución del gas existente, se trató de examinar también, cuando fue posible, la presencia de gas en el corazón, riñones e hígado, en intervalos de aproximadamente 20-30 minutos y hasta en un máximo de tres ocasiones. La evaluación completa de las tres regiones en los tiempos establecidos se llevó a cabo cuando el tamaño del animal o la operativa de trabajo del buque pesquero lo permitieron. En animales más grandes o aquellos con una alta carga de epibiontes en la zona cervical o axilar, no fue posible la correcta exploración del corazón y/o el hígado, pero al menos el riñón si pudo ser evaluado en todos los animales ecografiados.

En general, sólo se llevó a cabo una única exploración en los animales transferidos desde los buques de apoyo para confirmar la presencia de EG y tratar de estimar la cantidad de gas para poder clasificar al animal en base a su severidad.

Tal y como describimos en los capítulos anteriores, el gas acumulado y las burbujas circulantes se podían evidenciar por la presencia de focos hiperecoicos y artefactos característicos en cola de cometa en vasos renales, sistema portal-renal, así como en el corazón y sus principales vasos asociados (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2017). Antes de su liberación, se anotó la severidad final estimada del EG alcanzado en cada tortuga en base exclusivamente a las referencias ecográficas observadas. Hay que destacar que este sistema de valoración supone una diferencia importante con los estudios en centros de recuperación que permitían la cuantificación adicional mediante técnicas de radiología para una clasificación más precisa. En base a ecografía el grado de embolismo se estableció como: leve, moderado o severo, de acuerdo con los criterios anteriormente establecidos por nuestro grupo (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014) y descritos en el Capítulo 1, sección Materiales y Métodos.

Posteriormente se realizó un examen físico de cada ejemplar (condición general, heridas, respiración, presencia de espuma proveniente de la tráquea, etc.) y un examen neurológico básico basado en Chrisman et al. (1997) tal y como se ha explicado previamente para los animales recibidos en nuestro CR. Se evaluó el comportamiento y actitud general, la posición de la cabeza y las aletas, reflejos, respuesta al contacto en la zona de la cabeza, cuello y aletas y la respuesta al dolor superficial al pinzamiento de piel con fórceps en las aletas. El examen neurológico se fue repitiendo cada 30 minutos siempre y cuando la tortuga se mantuviese con vida, hasta su liberación. En aquellos casos en los que los animales no respondían a los estímulos, se aplicaron medidas de reanimación de forma frecuente entre los exámenes.



Figura 119: Zona de trabajo en la cubierta de la nave. El examen por ultrasonido siempre se trató de llevar a cabo lejos de áreas expuestas a salpicaduras o inundables.

B.3- MARCADO SATELITAL PARA TELEMETRÍA POST LIBERACIÓN

Para el marcaje de los animales se emplearon marcas para evaluar supervivencia (Survivorship Pat tags (sPAT)) de la casa Wildlife Computers (Wildlife Computers, Redmond, WA, USA). Se colocaron 31 marcas en Italia y 14 en Brasil a aquellos ejemplares que se mantuvieron vivos y mostraron cierta actividad antes de devolverlos al agua. Las sPAT son marcas Pop-Up (de flotación) para la transmisión de archivos de datos tras su liberación y emergencia a superficie específicamente diseñadas para la realización de estudios de supervivencia a corto plazo. Las sPAT utilizan un conjunto de sensores y algoritmos que permiten monitorizar el estado del animal marcado. Todas las marcas colocadas disponían de un mecanismo de activación al entrar en contacto con agua salada, manteniéndose operativas durante 30 días. El día 30, las marcas se liberaron automáticamente mediante un mecanismo programable, flotando hasta la superficie, y transmitiendo todos los datos recogidos desde el día de la suelta. En caso de que la marca registrase un parámetro preestablecido indicativo de la muerte de la tortuga, la marca también se liberaba para transmitir la información indicando la muerte del animal desde superficie. Los criterios preestablecidos de mortalidad se basaron en que la marca se mantuviera durante más de 24 h a una misma profundidad (en fondo o superficie). La información registrada y generalmente transmitida por las marcas incluyó: ubicación Argos en el momento de la liberación, la supervivencia de los animales (vivo/muerto) durante el periodo anterior a su liberación (día 30), la profundidad y la temperatura (del agua) máxima y mínima diarias.

En el caso de Italia, se aplicó resina epoxi bi-componente y malla de fibra de vidrio para la fijación de los dispositivos sPAT al caparazón ya que las autoridades italianas no permitieron la fijación mediante

perforación de los escudos marginales del caparazón tal y como se realizó en Brasil. En este segundo caso las marcas se fijaron mediante una adaptación de la técnica descrita por Maxwell et al.(2018), realizando un orificio de 2 mm de diámetro en el margen externo de uno de los escudos supracaudales y fijando con hilo de nylon de 1mm la marca al caparazón.



Figura 120: Detalle del sistema de anclaje de la marca. En el caso de Italia los pop-ups se unieron al caparazón con epoxi y fibra de vidrio. El veterinario sujeta la marca en la posición normal en la que se mantiene en el agua debido a su flotabilidad positiva. En el caso de Italia, todos los animales fueron liberados de forma inmediata tras la colocación de las marcas y el curado de la resina (generalmente entre 1 y 2 horas), mientras que en el caso de Brasil todos los animales marcados se mantuvieron en cubierta para observar su evolución para ser liberadas a las 2 horas de su captura.

El nylon fue lo más corto posible manteniendo la marca cerca del caparazón para reducir al máximo el riesgo de enganches y de enredos, pero permitiendo la suficiente distancia de flotabilidad al emisor como para que la antena pudiese salir a superficie al flotar y emitir cuando el animal saliese a respirar.

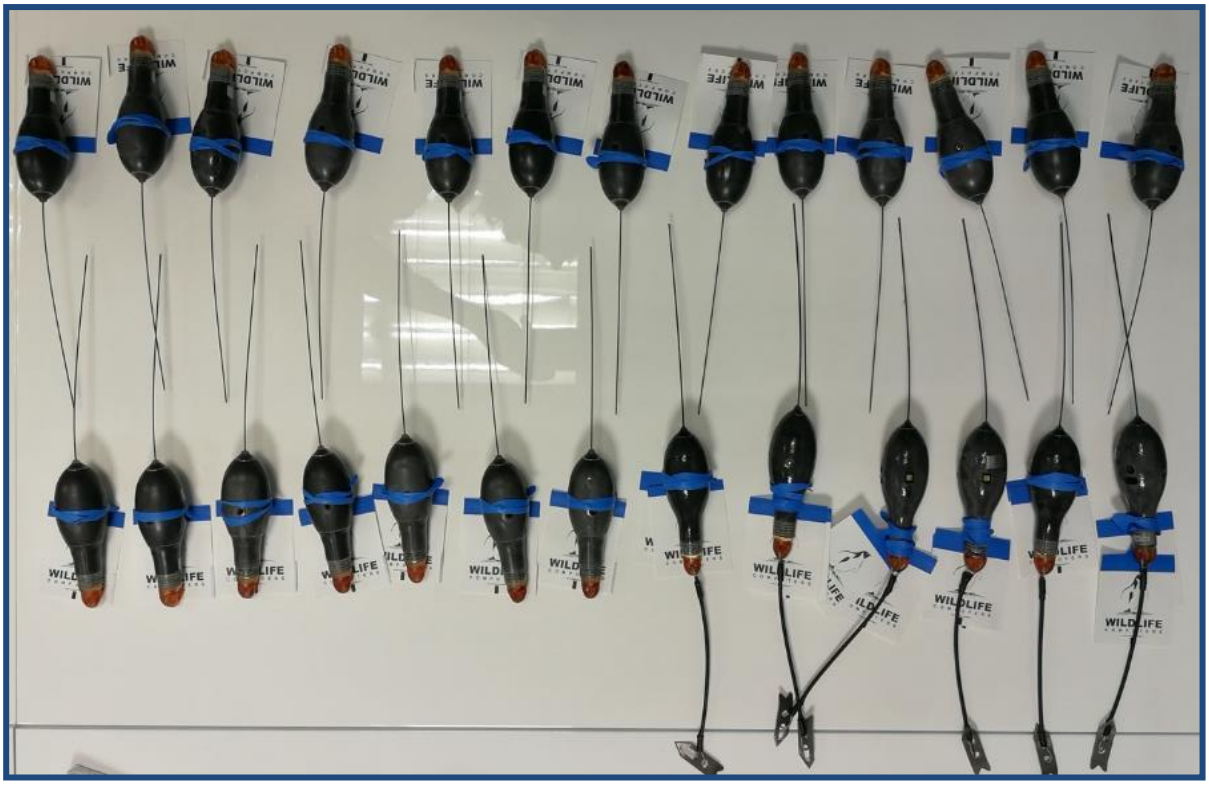


Figura 121: Conjunto de marcas Pop-Up recibidas en enero de 2019 para el proyecto llevado a cabo en aguas del Adriático.



Figura 122: Tortuga ya marcada y recuperándose sobre una cuba durante el curado de la resina. Nótese la presencia de un paño oscuro tapando los ojos para reducir su nivel de actividad y facilitar su manejo a bordo del buque.

B.4- EXÁMENES POST MORTEM

Durante el estudio de Brasil, los animales que se recuperaron muertos del aparejo o los que terminaban muriendo poco después, se mantuvieron en la cubierta hasta que se pudieron confirmar signos de *rigor mortis*. En ese momento, se realizó una necropsia a bordo siguiendo las consideraciones expresadas en el capítulo anterior para confirmar la presencia de EG y resto de lesiones asociadas previamente descritas (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014).

En el caso de Italia, a lo largo de todo el periodo de estudio únicamente hubo un animal que murió en cubierta en uno de los arrastreros colaboradores y fue traído a puerto y entregado a la ONG local para su necropsia más adelante, por lo que no se pudo incluir información referente a necropsias de tortugas en ninguna de las campañas italianas.

B.5- ANÁLISIS DE DATOS

Para el estudio de los datos generados en los trabajos realizados en Brasil e Italia se siguió la misma metodología que la planteada en el apartado anterior (A.2) a partir de los 62 casos de tortugas capturadas accidentalmente y examinadas a bordo.

En este caso y dado que todos los individuos se encontraban afectados en algún grado por la enfermedad en su gran mayoría de forma moderada o severa, dividimos de forma retrospectiva a los pacientes en 2 grupos en función de su origen (p. ej: Brasil o Italia), en 4 grupos base al tiempo que permaneció en superficie hasta su liberación (p. ej: <1,5h, 1,5-3h, 3-7h, >7h), posteriormente la muestra se dividió 3 grupos según el estado de consciencia en el que los animales se recuperaron de la red (p. ej: normales, estuporosos, comatosos) y finalmente en 2 grupos según el resultado final de muerte (p. ej: sobrevive o muere).

Las variables estudiadas a través del análisis univariante y multivariante discriminante para la mortalidad fueron: origen, la presencia de aspiración de agua, el grado de consciencia en el examen neurológico, la longitud en curvo del caparazón (LCC), la duración de calado, la profundidad de calado, la temperatura del agua y el tiempo transcurrido en superficie hasta su devolución al agua, y el tiempo en superficie agrupado.

C –IMPACTO DE LA DCS EN NUEVAS ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS

Siguiendo la misma metodología anteriormente descrita en el apartado A para la evaluación del embolismo en tortugas bobas en la Comunidad Valenciana (García-Párraga et al., 2014), se examinó en octubre de 2015 una tortuga laúd capturada viva por un barco pesquero de arrastre de fondo en la costa de Castellón de la Plana (39◦58'59.99"N, 0◦1'59.99"E) (**Figura 129**) y en mayo de 2016 una tortuga verde viva en una red costera de trasmallo en la costa del Perellonet (Valencia) (39◦18'26.068"N, 0◦17'47.049"W). Dado su tamaño, la tortuga laúd fue evaluada a bordo del buque pesquero una vez llegó a puerto para posteriormente ser devuelta a mar abierto. La tortuga verde fue transportada y examinada en el CR del Oceanogràfic siguiendo el procedimiento habitual descrito previamente para el resto de las tortugas (ver capítulo 2). Adicionalmente, durante los estudios de campo en la costa del sur de Brasil en enero de 2017, un arrastrero de fondo capturó una tortuga olivácea o golfina viva la cual siguió el mismo procedimiento anteriormente descrito para evaluar la incidencia y la evolución inmediata de la DCS a bordo de buques pesqueros.

Dadas las singularidades de las tortugas laúd, la longitud en curvo del caparazón (CCL) se midió desde el escudo nucal hasta el pedúnculo siguiendo la metodología de Robinson et al. (2017). Para la ecografía se empleó el mismo ecógrafo portátil ya mencionado en estudios anteriores [General Electric Logiq E Vet (GE Medical Systems)] pero en este caso con una sonda 4C-RS-Convex que confiere una mayor profundidad de penetración del haz de ultrasonidos con el fin de evaluar mejor la zona de proyección renal (**Figura 129**). La sonda convex se colocó en la ventana acústica prefemoral del área inguinal, configurando los presets a una profundidad de penetración de 20 cm para tratar de alcanzar el riñón y vasos adyacentes. En este caso concreto fue inviable evaluar las cámaras cardíacas, los grandes vasos de la base del corazón o el hígado ecográficamente dado el gran tamaño del animal.

III – RESULTADOS

A –EVALUACIÓN DEL IMPACTO GLOBAL DE LA DCS EN PESQUERÍAS DE LA C. VALENCIANA Y ESTABLECIMIENTO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD

A.1- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS

A continuación, se adjuntan una serie de tablas resumen aportando los resultados poblacionales más relevantes de todo el periodo de estudio segregados según las dos pesquerías principales que conformaron la muestra (arrastre y trasmallo):

Tabla 4: Resultados poblacionales más relevantes de todo el periodo de estudio expresados como número de ejemplares (n) y porcentaje del total (%).

Parámetro	Arrastre	Trasmallo	Total
Numero Total de Ingresos (%)	272 (62,52%)	156 (35,86%)	435
Vivos al ingreso (%)	256 (94,11%)	115 (73,72%)	374 (85,98%)
Muertos al ingreso (%)	18 (6,62%)	43 (27,56%)	63 (14,48%)
Muertes en el CR (%)	9 (3,52%)	9 (7,83%)	18 (4,14%)
Muertes finales totales (%)	25 (9,19%)	50(32,05%)	79(18,16%)
Casos de totales de embolismo (%)	169 (62,13%)	76 (48,72%)	249 (57,24%)
Casos totales aspiración (%)	5 (1,84%)	55 (35,26%)	60 (13,795)
Casos totales aspiración + EG (%)	5 (1,84%)	43 (27,56%)	48 (11,03%)
Casos de embolismo que mueren (%)	24 (14,20%)	44 (57,89%)	72 (28,91%)
Casos sin embolismo que mueren (%)	1(0,97%)	6 (7,5%)	7 (3,76%)
Casos con aspiración que mueren (%)	1(20%)	31(56,36%)	32 (53,33%)
Casos tot con Asp + EG que Mueren (%)	1 (20%)	27 (62,79%)	28 (58,33%)
Grado Promedio Severidad EG (0,1,2,3)	1,15	0,77	1,03
Número total de casos graves (%)	39 (22,94%)	6(7,89%)	49 (19,60%)
Número total de casos moderados (%)	64 (37,65%)	30 (39,47%)	94 (37,60%)
Número total de casos leves (%)	67 (39,41%)	40 (52,63%)	107 (42,80%)

Capturas Castellón (%)	200 (74%)	89 (57,05%)	290 (66,97%)
Capturas Valencia (%)	44 (16,3%)	62 (39,74%)	109 (25,17%)
Capturas Alicante (%)	26 (9,63%)	5 (3,2%)	34 (7,85%)

A continuación se adjunta otra tabla resumen de las variables ambientales y resultados observados más relevantes estudiados en la muestra (CC = *Caretta caretta*; CM = *Chelonia mydas*; DC = *Dermochelys coriacea*):

		N	%
Especie			
	CC	432	99.31
	CM	2	0.46
	DC	1	0.23
Tipo red			
	Arrastre	272	63.55
	Trasmallo	156	36.45
Provincia			
	Castellón	290	66.97
	Valencia	109	25.17
	Alicante	34	7.85
Aspiración agua			
	No	375	86.21
	Sí	60	13.79
EG			
	Sí	249	57.24
	No	186	42.76
Severidad EG			
	0	181	42.00
	1	107	24.83
	2	94	21.81
	3	49	11.37
Muerte llegada			
	No	372	85.52
	Sí	63	14.48
Muerte CR			
	No	417	95.86
	Sí	18	4.14
Muerte total			
	No	356	81.84
	Sí	79	18.16

Mes			
	Enero	75	17.24
	Febrero	54	12.41
	Marzo	93	21.38
	Abril	59	13.56
	Mayo	10	2.30
	Junio	7	1.61
	Julio	2	0.46
	Agosto	2	0.46
	Septiembre	9	2.07
	Octubre	23	5.29
	Noviembre	47	10.80
	Diciembre	54	12.41

Tabla resumen de los parámetros ambientales e individuales asociados a las capturas incluyendo el numero de casos estudiados (tamaño muestral), el valor promedio, la desviación entandar, valores máximos y mínimos así como los percentiles 25, 50 y 75.

	count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
Temperatura	434.00	15.88	2.99	12.90	13.70	14.60	16.40	26.20
Profundidad	290.00	35.55	22.38	3.00	16.00	30.00	54.50	100.00
Tiempo de calado	214.00	5.82	5.19	0.33	2.00	3.00	10.00	24.00
LCC	397.00	42.82	12.22	24.50	34.20	40.00	49.00	136.00
Peso	376.00	12.56	12.32	1.90	5.16	7.90	15.26	85.50

A continuación se presentan los histogramas de distribución de las variables continuas consideradas en el estudio.

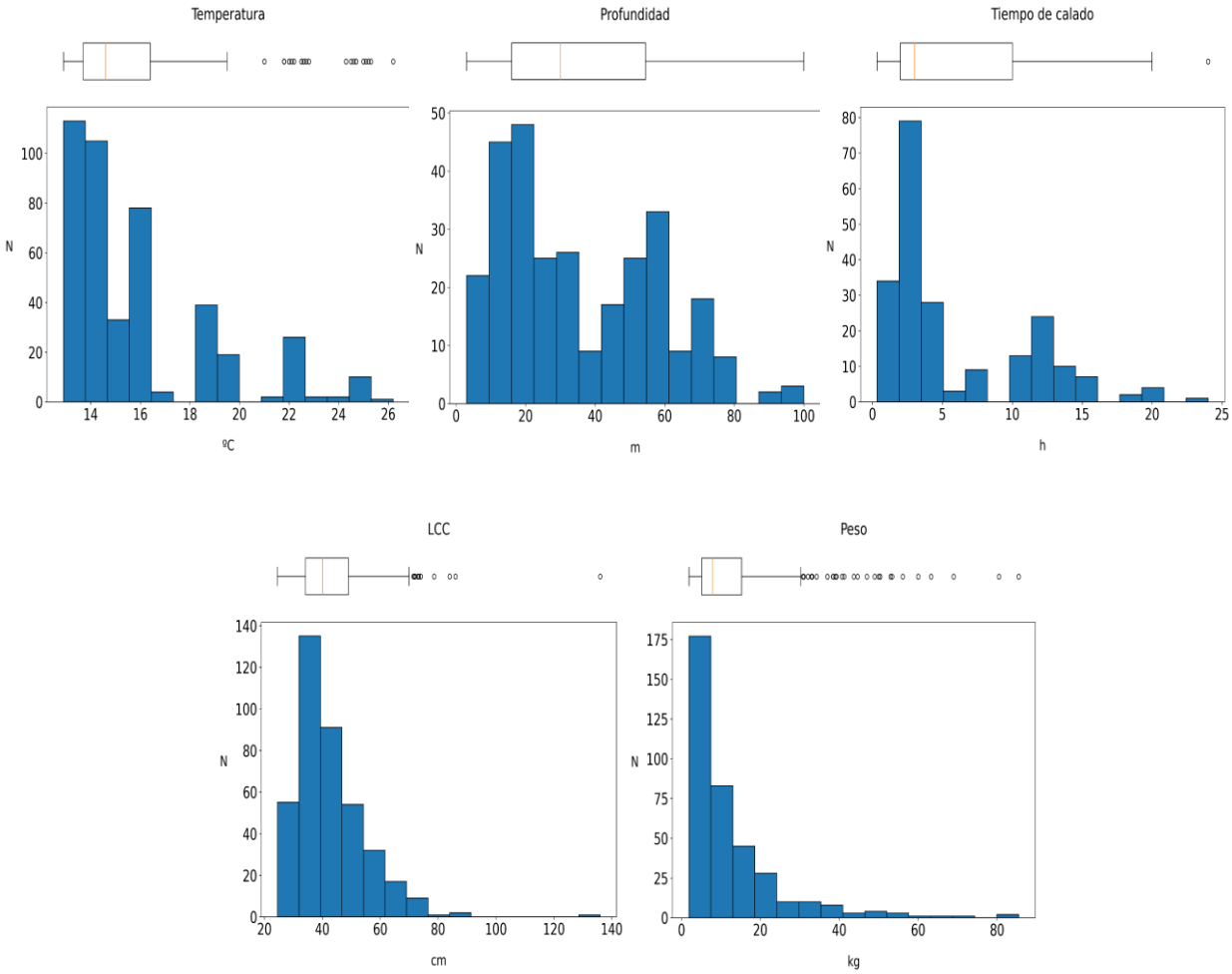
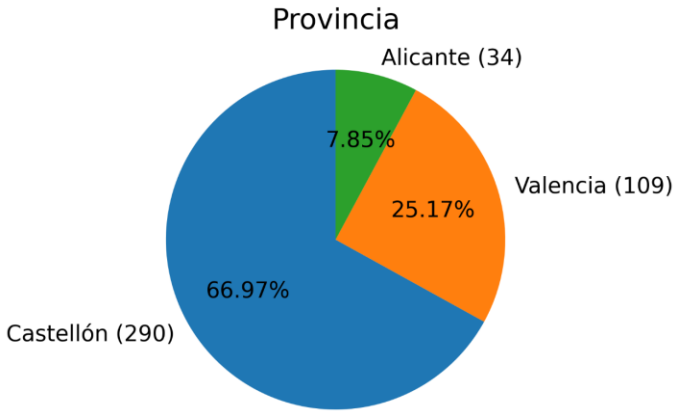


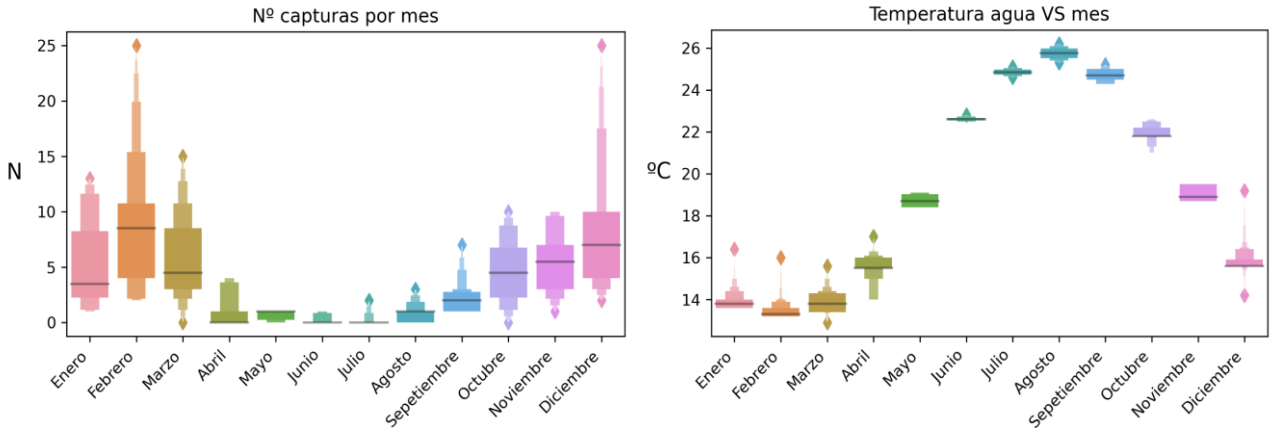
Tabla resumen de los parámetros ambientales e individuales asociados a las capturas segregados según las dos pesquerías principales que conformaron la muestra (arrastre y trasmallo)

Pesquería	Duración Calado (h) (Rango)	Duración de Calado (h) (Promedio)	Profundidad de Calado (m) (Rango)	Profundidad de Calado (m) (Promedio)	Temperatura del agua (ºC) (Rango)	Temperatura del agua (ºC) (Promedio)	LCC (cm) (Rango)	LCC (cm) (Promedio)
Arrastre	0,33-8	2,53	13-100	46,87	12.9-25	14,97	24,5-136	44,71
Trasmallo	1-24	11,67	3-70	14,48	13-25,30	17,31	25-67	39,24

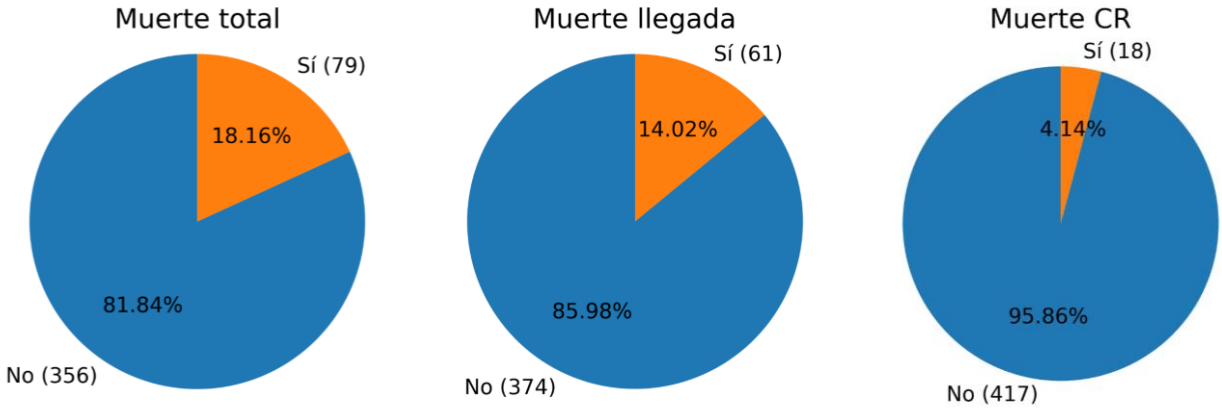
En cuanto a los ingresos, la inmensa mayoría de las tortugas recuperadas de las redes de pesca fueron ejemplares de tortuga boba, con únicamente 2 ejemplares de tortuga verde y un único ejemplar de tortuga laúd. El arrastre aportó la mayoría de las tortugas objeto de estudio con más de un 62% de los casos con respecto al trasmallo (con un 35,85% de casos) y al palangrillo de fondo que fue muy residual aportando sólo 3 casos (0,69%). Las capturas además se concentraron en la región de Castellón (66,97%) aportando el mayor número de tortugas tanto en arrastre como en trasmallo. Las cifras son muy inferiores en la región de Valencia (25,17%) y prácticamente residuales en Alicante (7,85%). Hay que destacar que, en la provincia de Valencia, el trasmallo llegó a superar al arrastre en cuanto al número de tortugas aportadas.



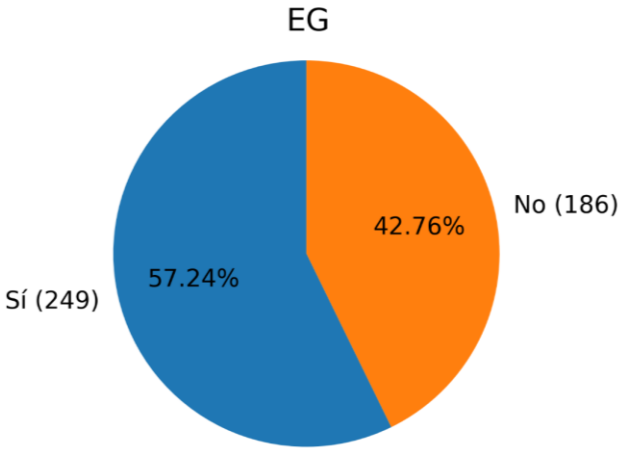
En cuanto a la estacionalidad de las capturas, en el siguiente gráfico podemos ver como durante los 10 años de estudio la mayoría de los animales ingresaron durante los meses más fríos del año (de octubre a marzo).



Las tasas de mortalidad global detectada de tortugas en la región, ascendió al 18,16% (considerando que los animales que llegaron vivos al CR fueron tratados). La mortalidad globalmente fue mayor para los animales procedentes de trasmallo (32,05%) que en el arrastre (9,19%). La gran mayoría de los animales que murieron (79,75%), lo hicieron antes de llegar al CR. Sólo un 73,72% de los casos de trasmallo fue susceptible de recibir tratamiento porque llegaron vivos al CR, mientras que la supervivencia inicial hasta poder recibir tratamiento fue muy superior en el caso del arrastre (94,11%). A continuación se muestran los diagramas del número total de bajas considerando los ingresos por de arrastre y trasmallo y la proporción de los que llegaron muertos frente a los que murieron en el CR.

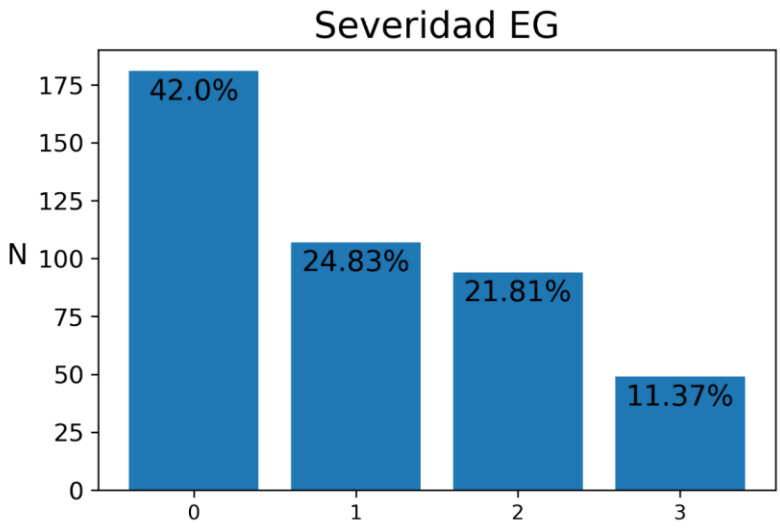


Globalmente, los casos de embolismo confirmados en pesquerías de la Comunidad Valenciana ascendieron al 57,24% de todas las capturas, siendo en este caso el porcentaje más elevado en el caso del arrastre (62,13%) que para el trasmallo (48,72%). A continuación tenemos un diagrama mostrando el número total y la proporción de tortugas que llegaron afectadas por algún grado de EG frente a los que no mostraron signos de enfermedad.



Los casos más graves de embolismo se acumulan en la pesca de arrastre de fondo (que opera a mayor profundidad) con respecto al trasmallo (que cala de forma más somera pero más tiempo). El valor

promedio de afectación de EG de todas las capturas durante todo el periodo fue del 1,03 (leve) siendo el grado 0 la ausencia de EG, y los grados 1, 2 y 3 los casos leves, moderados y severos respectivamente. A continuación se muestra un histograma indicando la proporción de casos (de todas las pesquerías en su conjunto) sin embolismo (0) y con embolismo leve (1), moderado (2) o severo (3) que llegaron al CR.



En el caso del arrastre el grado de EG promedio fue mayor (de 1,15) con respecto al trasmallo (de 0,77). Además, mientras que en el arrastre los casos de embolismo se distribuyen de forma bastante más homogénea entre leves (39,41%), moderados (37,65%) y graves (22,94%), en el caso del trasmallo los afectados leves (52,63%) y moderados (39,47%) conformaron la gran mayoría de casos. La profundidad mínima a la que se produjeron casos de embolismo en el trasmallo fue de solo 3 metros mientras que para el arrastre fue de 20 metros. La mortalidad en casos de embolismo fue del 28,91% frente a la mortalidad de los casos sin embolismo que fue del 3,76%. Los casos de aspiración de agua de mar fueron muy superiores en el caso del trasmallo (35,26%) en comparación con el arrastre (1,84%), lo que como hemos visto también se tradujo en una mortalidad mayor en el trasmallo. La aspiración de agua de mar se asoció a una mortalidad del 53,33%, mientras que los casos en los que concurren la EG y la aspiración de agua de mar se asocian a una mortalidad aún mayor (del 58,33%) siendo esta circunstancia mucho más frecuente en el trasmallo (27,56% de casos con esta doble patología) frente al arrastre (con solo un 1,84% de casos). De los 48 casos totales con EG y aspiración, 43 fueron aportados por trasmalleros.

A continuación, se adjuntas dos tablas con resultados adicionales sobre la actividad generada con las tortugas que llegaron vivas al CR según la pesquería de origen y mostrando los índices de mortalidad en el CR en función de la severidad del embolismo al ingreso:

Parámetro	Arrastre	Trasmallo	Palangre	Total
Número Total de animales entregados	272	156	3	435
Número Total de animales entregados vivos (%)	256(94,11%)	115(73,72%)	3 (100%)	374 (85,98%)
Casos que ingresan vivos con embolismo (%)	154 (60,16%)	40 (34,78%)	0 (0%)	194 (51,87%)
Tasa global supervivencia post ingreso (con tratamiento) (%)	96,48%	92,17%	100,00%	95,19%
Muertes finales totales (%)	25 (9,19%)	50 (32,05%)	0 (0%)	79 (18,16%)
Casos que ingresan vivos con aspiración (%)	4 (1,56%)	29 (25,21%)	0 (0%)	33 (8,82%)
Casos que ingresan vivos con aspiración + EG(%)	4 (1,56%)	21 (18,26%)	0 (0%)	25 (6,68%)
Casos que ingresan vivos con aspiración + EG que Mueren (%)	0 (0%)	5 (23,8%)	0 (0%)	5 (20%)
Tasa global supervivencia de los casos de EG (con Trto) (%) (incluyendo vivos y muertos)	94,15%	80,00%	_	91,23%

Parámetro	Total	Mueren	Mortalidad %
Número de ingresos vivos sin EG	177	1	0,56
Número de ingresos vivos con EG leve	95	3	3,16
Número de ingresos vivos con EG moderado	71	8	11,27
Número de ingresos vivos con EG grave	27	6	22,22

Un 85,52% de todos los animales recibidos ingresaron vivos en el CR. En general, de todos los ingresos que llegaron vivos al CR, gracias a la terapia aplicada solo terminó muriendo un 4,3%, alcanzando una mortalidad final de todos los casos recibidos del 18,16% entre los que ya llegaron muertos y los que terminaron muriendo a pesar del tratamiento.

En cuanto a la efectividad del tratamiento en particular, durante este periodo de 10 años, se trataron las 374 tortugas que llegaron vivas al CR, si bien es cierto que el diagnostico más preciso y el tratamiento específico HBOT sólo se aplicaron de forma sistemática en todos los casos de embolismo cuando fue posible a partir de 2014 que contamos con la primera cámara hiperbárica. La tasa global de embolismo de las tortugas remitidas por pescadores (vivas y muertas) fue del 57,24% pero considerando sólo los animales susceptibles de recibir tratamiento (los que llegaron vivos al CR), la

tasa de embolismo fue del 51,87% (60,16% en el caso del arrastre, 34.78% para el caso de trasmallo y sin casos de EG en el palangrillo de fondo). Los casos que llegaron con aspiración de agua de mar fueron un 8.82% de los ingresos vivos (un 1,56% de los ingresos por arrastre, un 25.21% del trasmallo y un 0% en el palangre de fondo), habiendo un porcentaje total de casos del 6,68% de aspiración y embolismo simultáneo (1.56% del arrastre y 18,26% en el trasmallo). Estos casos son precisamente los que acumularon una mayor mortalidad, alcanzando el 58.33% de los casos totales (prácticamente la mitad llegaron ya muertos), muriendo también un 20% adicional de los casos que llegaron vivos con esta doble condición, a pesar del tratamiento específico recibido en el centro.

La tasa de supervivencia global que permitió la reintroducción tras el paso por el CR considerando todos los ingresos que llegaron vivos fue del 95.19% (96,48% para el arrastre, 92,17% para el trasmallo y 100% en el caso del palangre de fondo). La supervivencia al tratamiento para los casos confirmados de embolismo que llegaron vivos al CR fue algo inferior, del 91.23% (94,15% para los casos de arrastre y del 80% para el trasmallo). Atendiendo a la severidad del embolismo, la supervivencia de los pacientes que ingresaron con embolismo leve y se sometieron a tratamiento específico HBOT fue del 96.84% (95 animales tratados y 3 muertes), los pacientes con embolismo moderado sobrevivieron en un 88,73% de los casos (71 animales tratados y 8 bajas) mientras que en el caso de los pacientes con embolismo severo se alcanzó una supervivencia del 77,78% (27 casos y 6 bajas). Para los animales que llegaron vivos sin EG, la supervivencia en el CR con el tratamiento básico de soporte fue del 99,45% (1 baja en 177 casos).

A.2- ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON LA DCS Y LA MORTALIDAD

ESTADÍSTICA ANALÍTICA UNIVARIANTE

1- ASOCIACIÓN CON LA MORTALIDAD

Para analizar la asociación entre variables categóricas y la mortalidad total se empleó la prueba de chi cuadrado. Como se observa en la tabla, las variables severidad EG, aspiración agua y tipo de red mostraron diferencias significativas ($p < 0.001$), mientras que la provincia de origen no supuso diferencias entre las que murieron y sobrevivieron ($p > 0.05$).

	Muerte total Sí (n=79)		Muerte total No (n=356)		p-valor	% supervivencia
	N	%	N	%		
Severidad EG	77	17.70	354	81.38	< 0.001	
0	5	6.49	176	49.72		97.24
1	13	16.88	94	26.55		87.85
2	31	40.26	63	17.80		67.02
3	28	36.36	21	5.93		42.86
Aspiración agua	79	18.16	356	81.84	< 0.001	
No	47	59.49	328	92.13		87.47
Sí	32	40.51	28	7.87		46.67
Tipo de red	75	17.24	353	81.15	< 0.001	
Arrastre	25	33.33	247	69.97		90.81
Trasmallo	50	66.67	106	30.03		67.95
Provincia	79	18.16	354	81.38	0.176	
Alicante	10	12.66	24	6.78		70.59
Castellón	48	60.76	242	68.36		83.45
Valencia	21	26.58	88	24.86		80.73

Asimismo, se analizó qué variables cuantitativas presentan asociación con la mortalidad. En este caso se empleó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, ya que el análisis de normalidad indicó que estas variables no cumplían dicha condición. Las variables que resultaron significativas fueron el tiempo de calado ($p < 0.001$), la temperatura ($p < 0.001$) y la profundidad ($p=0.029$). Ni el peso ni la LCC mostraron diferencias significativas entre los grupos. Además, en las gráficas correspondientes a las funciones de distribución se observa con claridad la diferente distribución que presentan las variables que mostraron diferencias significativas cuando se comparan las poblaciones de tortugas que sobreviven y las que mueren.

	Muerte total Sí (n=79)			Muerte total No (n=356)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Tiempo de calado	30	10.00	4.50 - 12.00	184	3.00	2.00 - 8.00	< 0.001
Temperatura	79	16.00	14.10 - 19.50	355	14.40	13.60 - 16.00	< 0.001
Profundidad	45	17.00	13.00 - 50.00	245	33.00	17.00 - 55.00	0.029
Peso	44	5.60	4.40 - 14.20	332	8.26	5.30 - 15.59	0.075
LCC	56	38.40	34.30 - 44.00	341	40.00	34.00 - 49.00	0.367

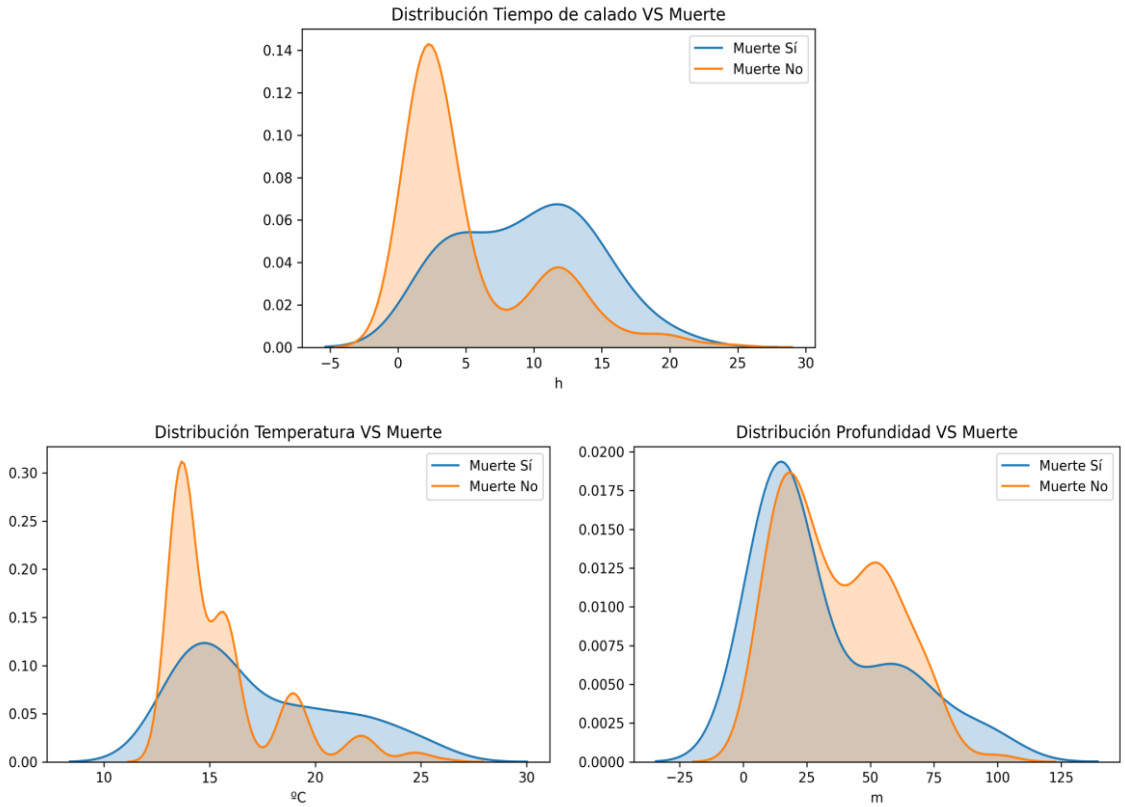


Figura 123: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de las 3 variables cuantitativas que mostraron significatividad (profundidad temperatura y tiempo de calado) frente a la mortalidad.

2- ASOCIACIÓN CON EL DESARROLLO DE EG

Para analizar la asociación entre variables categóricas y el desarrollo de embolismo se empleó la prueba de chi2. Como se observa en la tabla, las variables aspiración agua y tipo de red mostraron diferencias significativas ($p < 0.001$ y $p = 0{,}009$), mientras que una vez más en cuanto a la provincia de origen no hubo diferencias entre las que murieron y sobrevivieron ($p > 0.05$).

	EG Sí (n=249)		EG No (n=186)		p-valor	% EG
	N	%	N	%		
Aspiración agua	249	57.24	186	42.76	< 0.001	
No	200	80.32	175	94.09		46.67
Sí	49	19.68	11	5.91		18.33
Tipo red	245	56.32	183	42.07	0.009	
Arrastre	169	68.98	103	56.28		37.87
Trasmallo	76	31.02	80	43.72		51.28
Provincia	248	57.01	185	42.53	0.124	
Alicante	25	10.08	9	4.86		26.47
Castellón	164	66.13	126	68.11		43.45
Valencia	59	23.79	50	27.03		45.87

Para el análisis de las variables cuantitativas en relación con el desarrollo de embolismo se empleó el test de Mann-Whitney, ya que una vez más estas variables no seguían una distribución normal. Las variables que presentaron diferencias significativas en este caso fueron la profundidad ($p < 0.001$), el peso ($p < 0.001$) y la LCC ($p < 0.001$), pero no así el tiempo de calado ni la temperatura. En las gráficas correspondientes se observa con claridad la diferente distribución que presentan estas variables cuando se comparan las poblaciones de tortugas que desarrollaron embolismo y las que no.

	EG Sí (n=249)			EG No (n=186)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Profundidad	179	40.00	18.00 - 59.00	111	20.00	13.75 - 39.50	< 0.001
Peso	215	9.47	5.62 - 18.73	161	6.25	4.50 - 11.50	< 0.001
LCC	223	42.00	35.90 - 52.00	174	37.20	33.05 - 45.00	< 0.001
Tiempo de calado	129	3.00	2.00 - 8.00	85	4.00	2.00 - 12.00	0.416
Temperatura	249	14.40	13.80 - 16.30	185	15.00	13.70 - 16.50	0.904

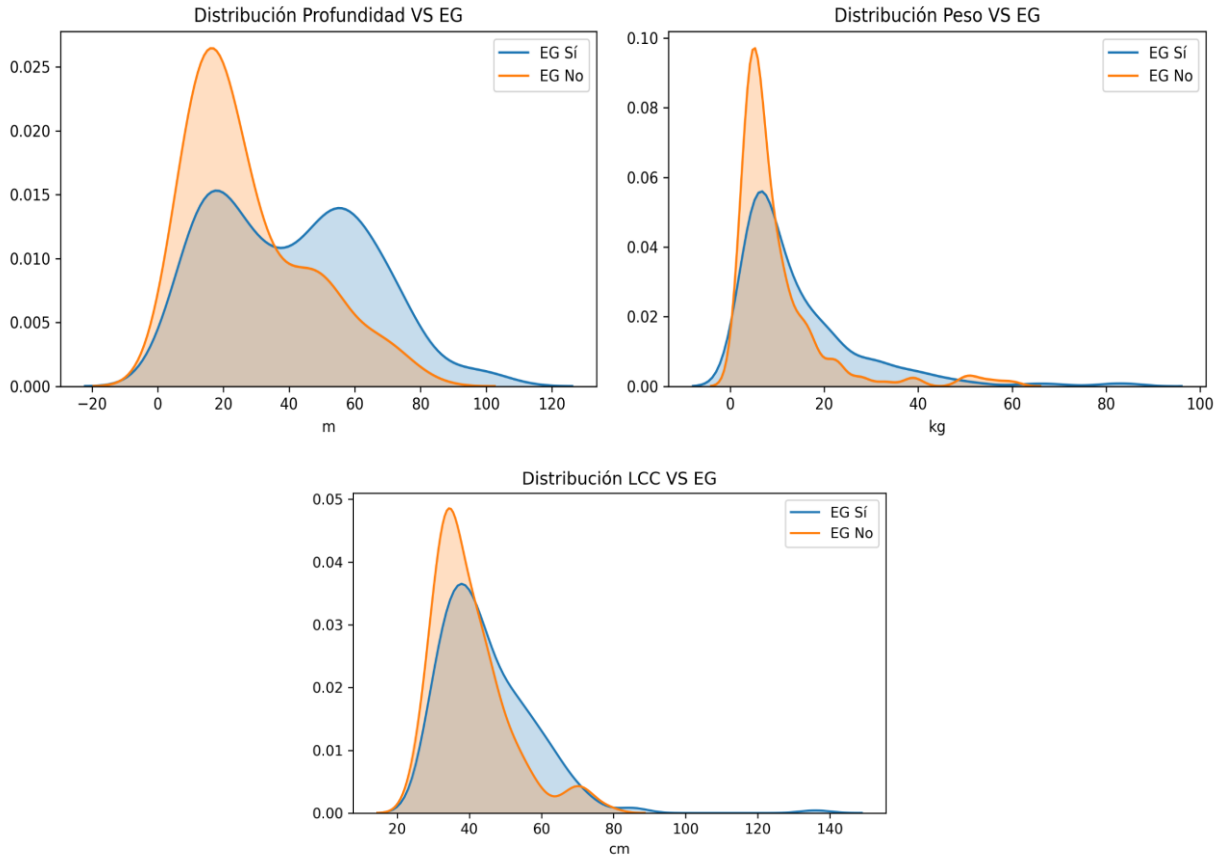


Figura 124: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de las 3 variables cuantitativas que mostraron significatividad (profundidad, peso y LCC) frente al desarrollo de embolismo.

3- ASOCIACIÓN CON LA SEVERIDAD DEL EG

La asociación entre variables categóricas y la severidad de EG se analizó mediante la prueba de chi cuadrado. Las variables que mostraron diferencias significativas entre los distintos grupos fueron aspiración agua (p<0.001), provincia (p=0.001) y tipo red (p=0.002).

	p-valor
Aspiración agua	<0.001
Provincia	0.001
Tipo red	0.002
Mes	0.160

Para determinar qué variables cuantitativas presentaban diferencias según la severidad de EG se utilizó el método de Kruskal-Wallis, debido a la condición de no normalidad de dichas variables. En este caso, la profundidad, el peso y la longitud en curvo del caparazón (LCC) mostraron diferencias significativas mientras que la temperatura o el tiempo de calado no se asociaron a la severidad.

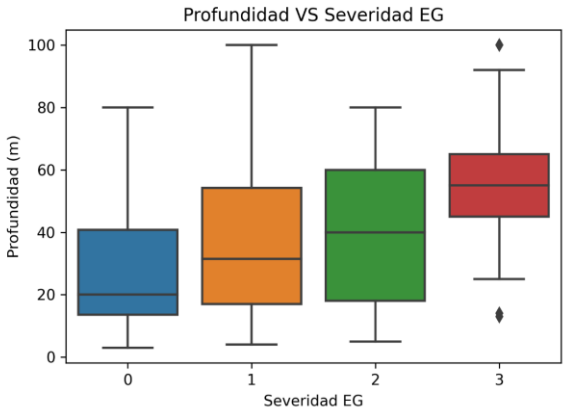
	p-valor
Profundidad	< 0.001
Peso	< 0.001
LCC	< 0.001
Temperatura	0.668
Tiempo de calado	0.772

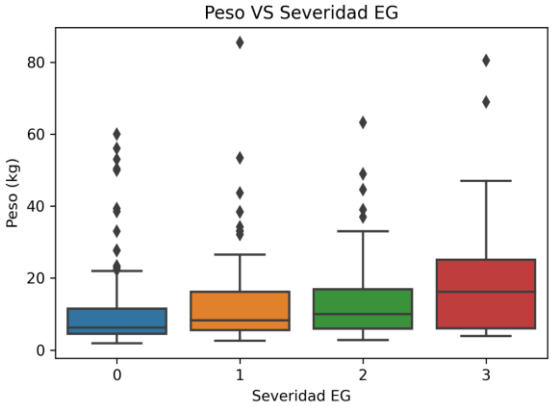
En el análisis post hoc de las variables significativas se determinó que las diferencias se encontraban entre los grupos 0-2, 0-3 y 1-3 en el caso de la variable profundidad (p valor 0.003, < 0.001 y 0.002, respectivamente); entre los grupos 0-2 y 0-3 en peso (p 0.010 y 0.001, respectivamente) y entre los grupos 0-2 y 0-3 en la variable LCC (p 0.040 y 0.001, respectivamente). Estas diferencias se pueden observar con mayor claridad en las siguientes tablas y los correspondientes diagramas de cajas.

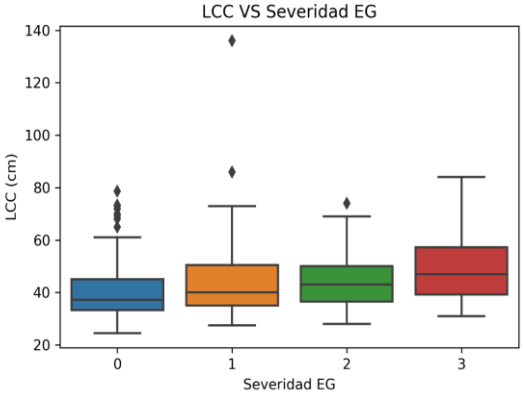
Profundidad	0	1	2	3
0	1.000	0.146	0.003	0.000
1	0.146	1.000	0.527	0.002
2	**0.003**	0.527	1.000	0.098
3	**0.000**	**0.002**	0.098	1.000

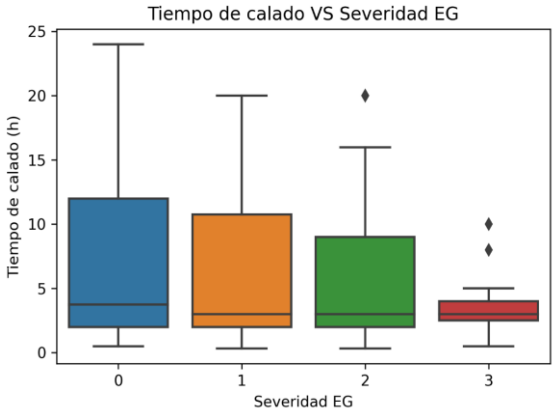
Peso	0	1	2	3
0	1.000	0.078	0.010	0.001
1	0.078	1.000	0.871	0.232
2	**0.010**	0.871	1.000	0.591
3	**0.001**	0.232	0.591	1.000

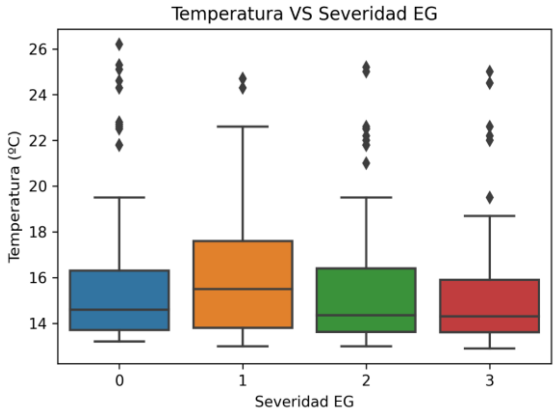
LCC	0	1	2	3
0	1.000	0.110	0.040	0.001
1	0.110	1.000	0.959	0.135
2	**0.040**	0.959	1.000	0.329
3	**0.001**	0.135	0.329	1.000





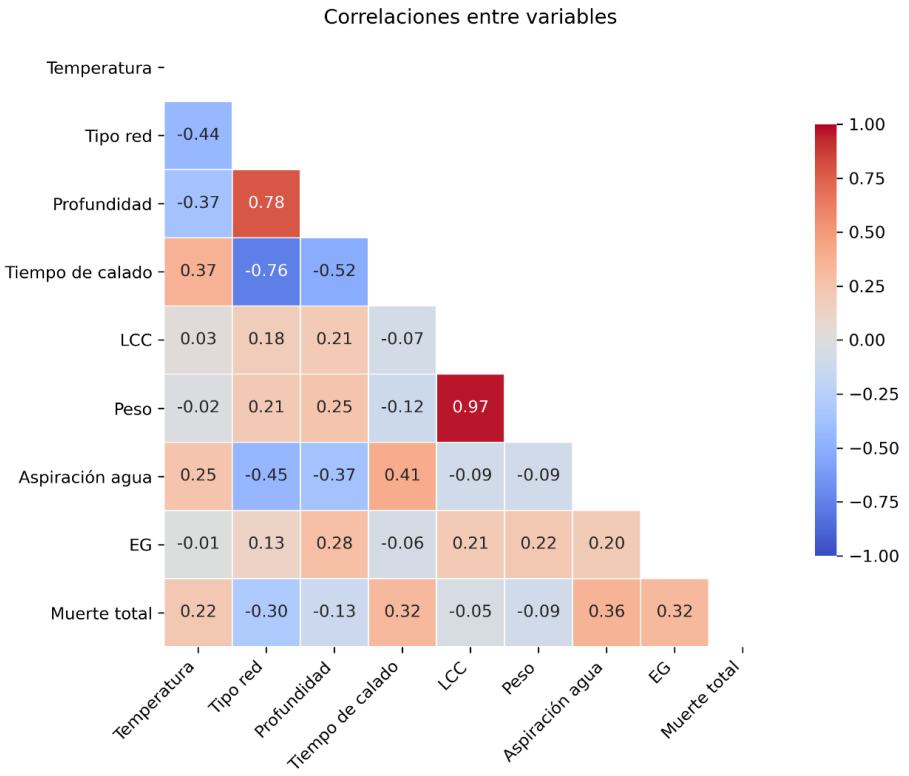


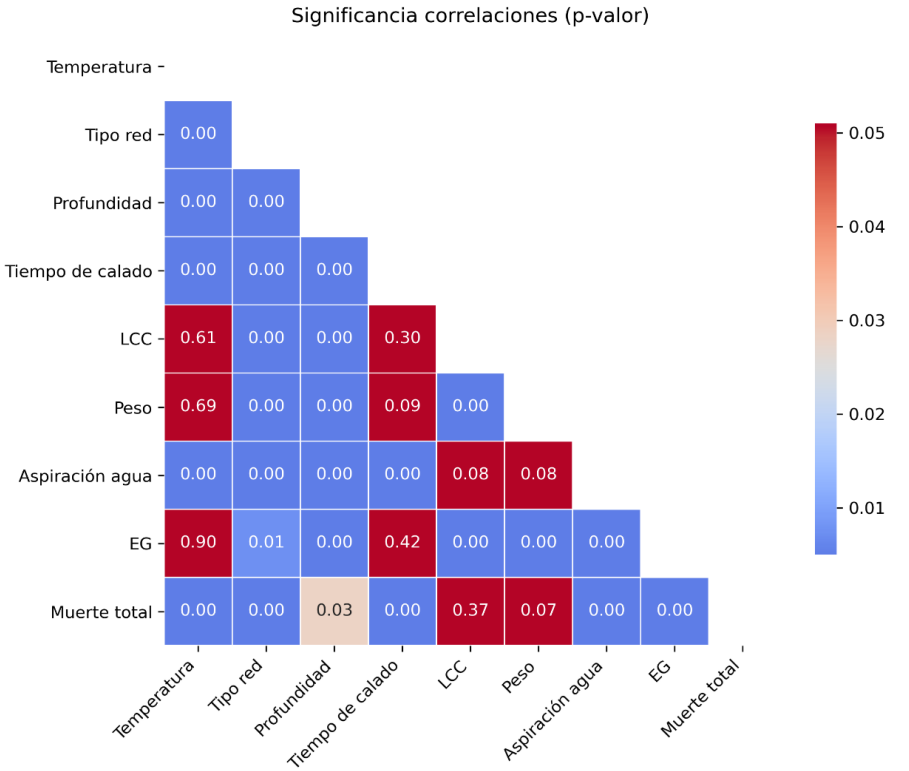




4- CORRELACIÓN ENTRE LAS DISTINTAS VARIABLES (SPEARMAN)

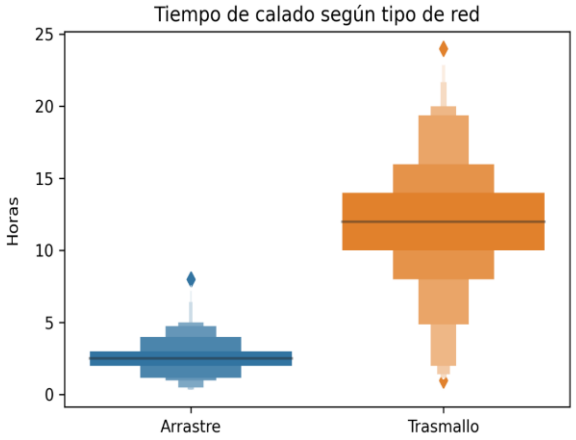
Para determinar la correlación entre las distintas variables se calculó el coeficiente rho de Spearman, así como el p-valor asociado a cada coeficiente.

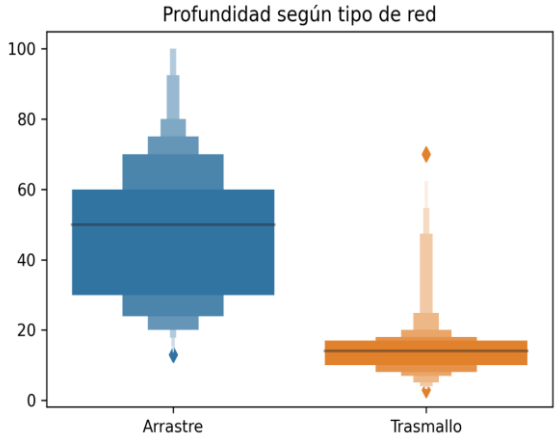




Como se

muestra en los mapas de calor, existe una alta correlación entre la profundidad y el tiempo de calado con el Tipo de Red empleado (r 0.78 y -0.76 respectivamente, $p < 0.01$). Los distintos tipos de artes (arrastre y trasmallo) están muy asociados a tiempos de calado y profundidades contrapuestos tal y como se puede observar en los siguientes diagramas: en el arrastre se cala menos tiempo y a mayor profundidad mientras que en el trasmallo se cala mucho más tiempo pero a una menor profundidad.





Así, estos factores están fuertemente asociados entre sí.

A continuación, se adjunta una tabla resumen con los parámetros de profundidad y tiempo de calado recogidos para cada una de las pesquerías:

		Arrastre	Trasmallo
Profundidad	**Count (n)**	189.00	99.00
	min	13.00	3.00
	25%	30.00	10.00
	50%	50.00	14.00
	75%	60.00	17.00
	max	100.00	70.00
	mean	46.87	14.48
	std	19.02	8.60
Tiempo de calado	**Count (n)**	137.00	75.00
	min	0.33	1.00
	25%	2.00	10.00
	50%	2.50	12.00
	75%	3.00	14.00
	max	8.00	24.00
	mean	2.53	11.67
	std	1.23	4.36

5- ANÁLISIS DEL ARRASTRE Y EL TRASMALLO POR SEPARADO

Debido a que tanto el tiempo de calado como la profundidad se encuentran muy asociadas en función al tipo de pesquería, se decidió estudiar también la asociación de dichas variables con la mortalidad, la presencia de EG y la severidad de EG dentro de cada pesquería (separando la muestra en función del tipo de red empleado).

De esta forma, se pudo determinar la influencia de cada una de estas dos variables evitando la confusión que produce la alta asociación entre ellas. Como muestran los resultados, la variable profundidad es la variable que muestra asociación con los tres extremos estudiados en el caso de arrastre (mortalidad, presencia de EG y severidad de EG). Sin embargo, en los casos de tortugas capturadas por trasmallo, no se establecieron diferencias significativas en base a la profundidad ni en el tiempo de calado con respecto a la mortalidad, el riesgo de EG o la severidad del EG. Se puede afirmar, por tanto, que sólo en el arrastre la profundidad tiene influencia tanto en la mortalidad como en la presencia y gravedad de EG pero el tiempo de calado solo tiene un impacto significativo sobre la mortalidad asociada a este arte, pero no así en el desarrollo de EG ni en su severidad.

MORTALIDAD EN ARRASTRE	Muerte total Sí (n=25)			Muerte total No (n=247)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Profundidad	14	60.00	51.25 - 73.25	175	47.00	30.00 - 59.00	0.005
Tiempo de calado	8	3.00	2.88 - 3.62	129	2.00	2.00 - 3.00	0.022

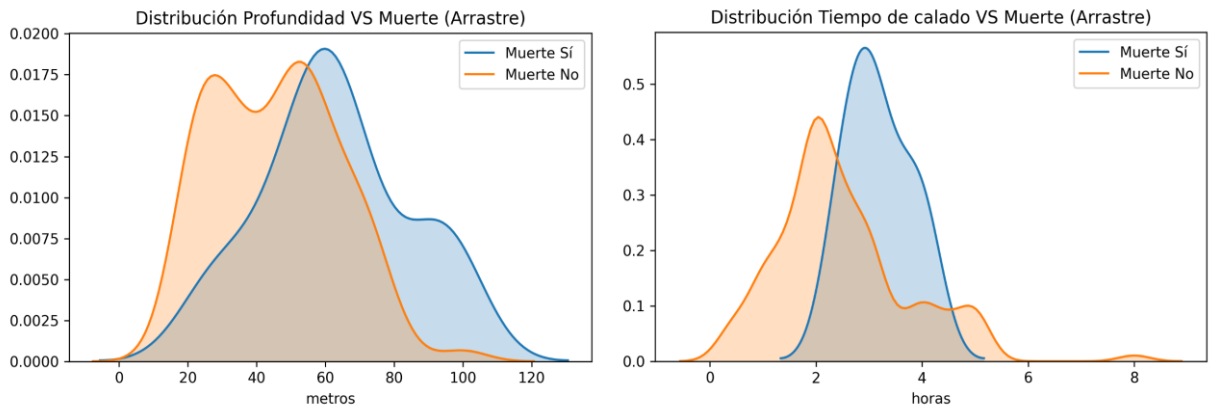


Figura 125: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de las 2 variables cuantitativas que mostraron significatividad (profundidad y tiempo de calado) frente a la mortalidad en pesquerías de arrastre.

MORTALIDAD EN TRASMALLO	Muerte total Sí (n=50)			Muerte total No (n=106)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Profundidad	31	14.00	12.00 - 17.50	68	13.25	9.00 - 16.62	0.166
Tiempo de calado	22	12.00	8.50 - 13.75	53	12.00	10.00 - 14.00	0.972

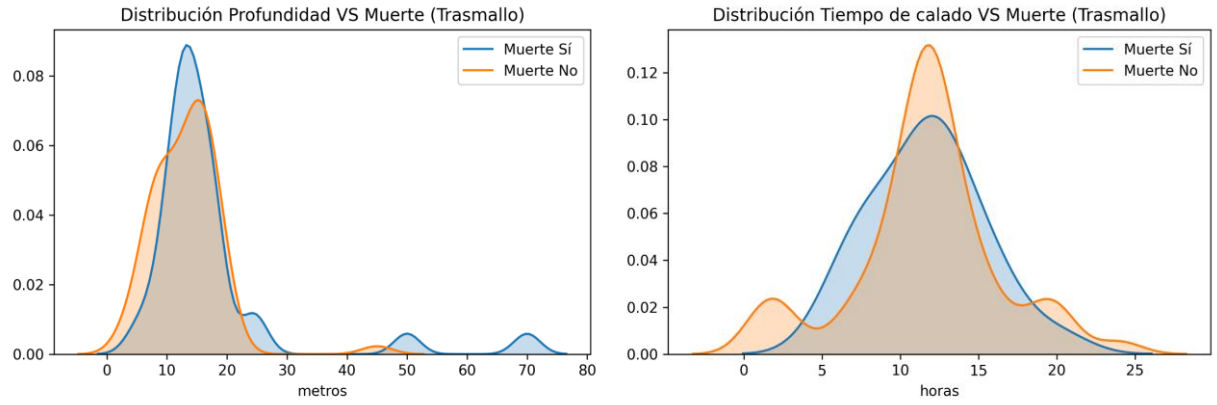


Figura 126: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de la profundidad y tiempo de calado frente a la mortalidad en pesquerías de trasmallo. En este caso no se observan diferencias significativas.

EG EN ARRASTRE	EG Sí (n=169)			EG No (n=103)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Profundidad	126	51.50	35.00 - 62.25	63	35.00	25.00 - 50.00	0.000
Tiempo de calado	87	2.50	2.00 - 3.00	50	2.00	1.50 - 3.00	0.401

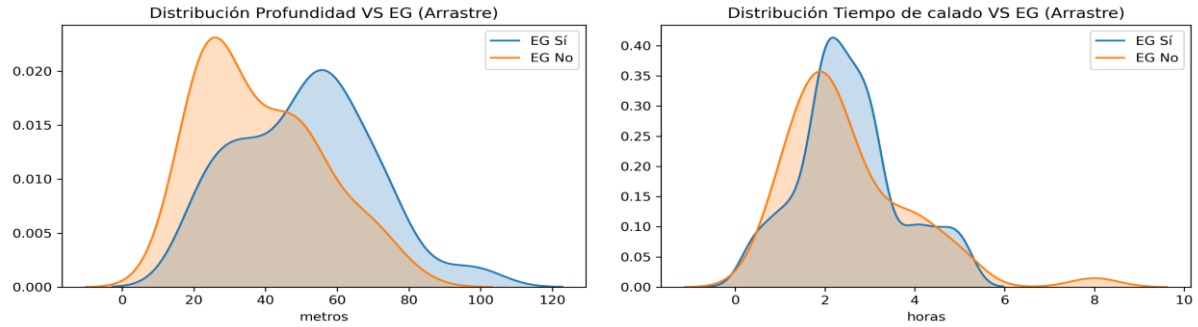


Figura 127: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de la profundidad y tiempo de calado frente al desarrollo de EG en pesquerías de arrastre. En este caso se observan diferencias significativas en el caso de la profundidad, pero no así en el tiempo de calado.

EG EN TRASMALLO	EG Sí (n=76)			EG No (n=80)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Profundidad	53	14.00	12.00 - 17.00	46	13.00	9.00 - 16.00	0.201
Tiempo de calado	42	12.00	8.50 - 13.00	33	12.00	10.00 - 14.00	0.519

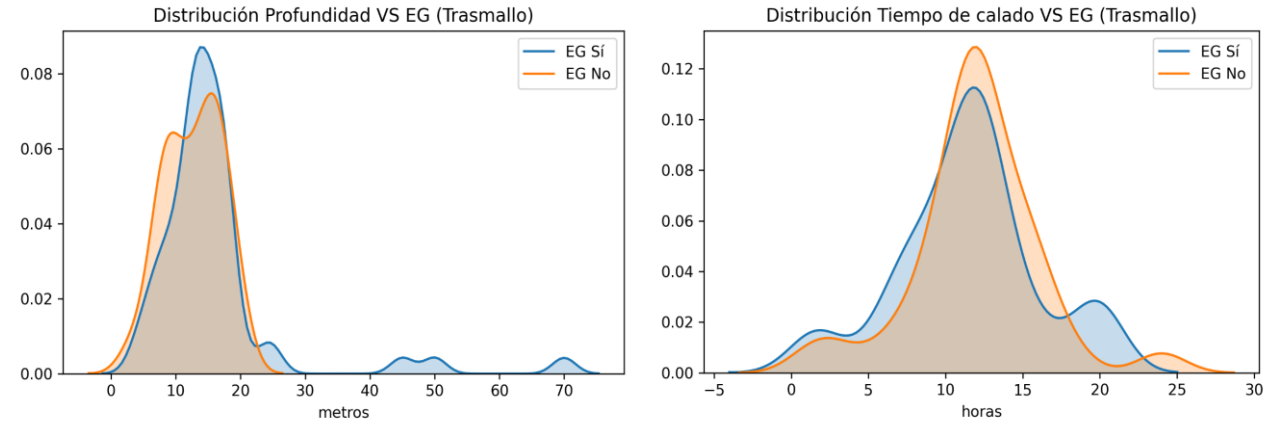
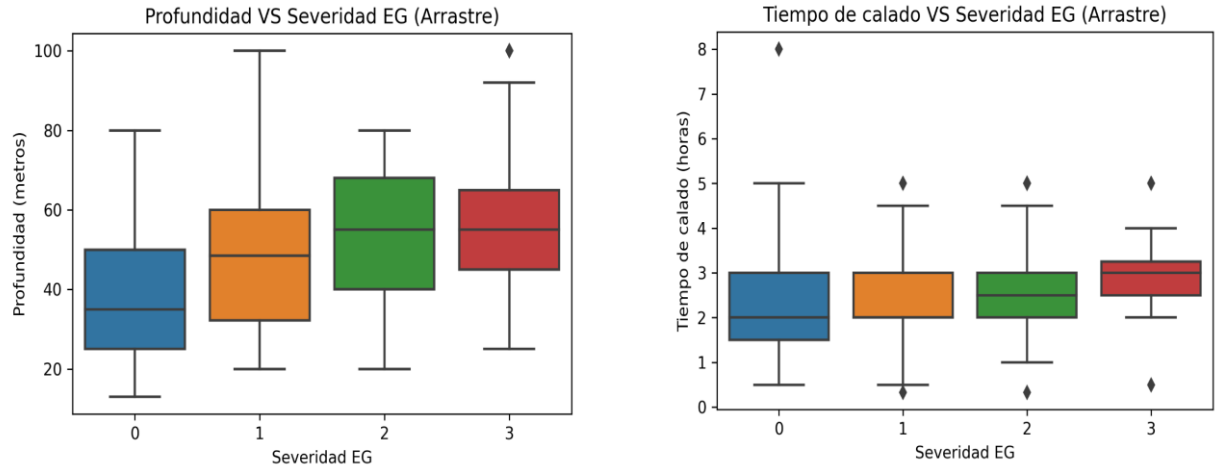


Figura 128: Gráficos de las funciones de densidad de la distribución de la profundidad y tiempo de calado frente al desarrollo de EG en pesquerías de trasmallo. En este caso no se observan diferencias significativas frente a ninguna de las dos variables.

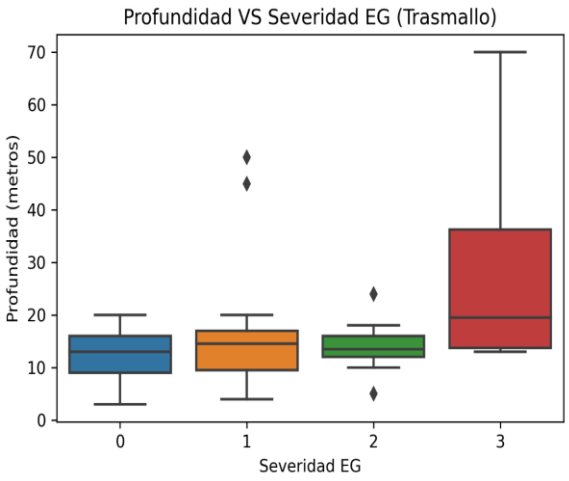
Severidad EG en Arrastre

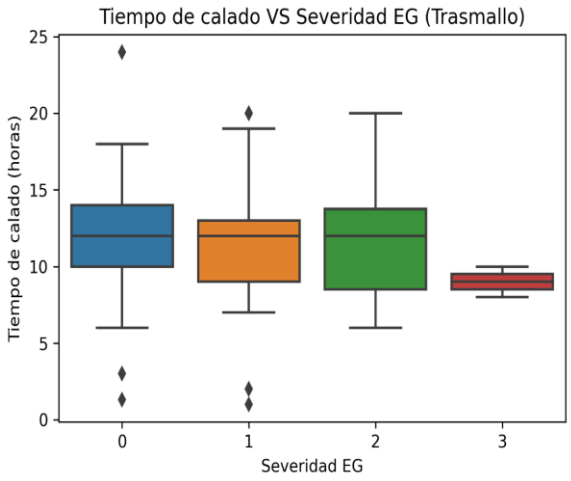
Arrastre	p_value
Profundidad	0.000
Tiempo de calado	0.174



Severidad EG en Trasmallo

Trasmallo	p_value
Profundidad	0.231
Tiempo de calado	0.414





ESTADÍSTICA ANALÍTICA MULTIVARIANTE

En lo referente al análisis multivariante discriminante para la valoración de la gravedad de la enfermedad y la mortalidad frente al efecto combinado de las diferentes variables, el sistema consideró válidos 209 casos de los 435 pues en el resto faltaba al menos una variable discriminatoria.

1- MODELO PARA LA ESTIMACIÓN DE LA MORTALIDAD:

En este caso la única variable significativa que el modelo consideró incluir en la función fue la presencia de aspiración descartando el resto de las variables.

Variables entradas/eliminadas[a,b,c,d]

Escalón	Especificado	Lambda de Wilks							
						F exacta			
		Estadístico	df1	df2	df3	Estadístico	df1	df2	Sig.
1	Aspiración	,801	1	1	207,000	51,414	1	207,000	,000

En cada paso, se entra la variable que minimiza la lambda de Wilks global.

a. El número máximo de pasos es 8.

b. La F mínima parcial para entrar es 3.84.

c. La F máxima parcial para eliminar es 2.71.

d. El nivel F, la tolerancia o VIN no suficiente para un cálculo adicional.

En este caso los coeficientes de función fueron los siguientes:

Coeficientes de función de clasificación

	Resultado final Muerte	
	,0	1,0
Aspiración	,873	5,314
(Constante)	-,734	-2,211

Funciones discriminantes lineales de Fisher

Y en la validación cruzada el modelo predictivo pudo clasificar correctamente un 82,8% de los casos lo que implicaría que efectivamente la aspiración nos ofrece un modelo predictivo bastante bueno para estimar la mortalidad.

Resultados de clasificación[a,c]

		Resultado final Muerte	Pertenencia a grupos pronosticada ,0	Pertenencia a grupos pronosticada 1,0	Total
Original	Recuento	,0	328	28	356
		1,0	47	32	79
	%	,0	92,1	7,9	100,0
		1,0	59,5	40,5	100,0
Validación cruzada[b]	Recuento	,0	328	28	356
		1,0	47	32	79
	%	,0	92,1	7,9	100,0
		1,0	59,5	40,5	100,0

a. 82,8% de casos agrupados originales clasificados correctamente.

b. La validación cruzada se ha realizado sólo para aquellos casos del análisis. En la valida distintos a dicho caso.

c. 82,8% de casos agrupados validados de forma cruzada clasificados correctamente.

Esto lo podemos ver también reflejado en la tabla cruzada (Chi-cuadrado <0.001):

Resultado final Muerte*Aspiración tabulación cruzada

Recuento

		Aspiración 0	Aspiración 1	Total
Resultado final Muerte	,0	328	28	356
	1,0	47	32	79
Total		375	60	435

Según la tabla podemos ver que sólo un 12,5% de los casos sin aspiración terminan muriendo mientras que un 53,3% de los casos afectados por la aspiración no sobreviven.

En un estudio por separado vemos que también el factor duración de calado presenta diferencias significativas entre los diferentes grupos de muertos y supervivientes:

Variables entradas/eliminadas[a,b,c,d]

Escalón	Especificado	Lambda de Wilks							
						F exacta			
		Estadístico	df1	df2	df3	Estadístico	df1	df2	Sig.
1	Duración calado (h)	,921	1	1	212,000	18,075	1	212,000	,000

En cada paso, se entra la variable que minimiza la lambda de Wilks global.

a. El número máximo de pasos es 2.

b. La F mínima parcial para entrar es 3.84.

c. La F máxima parcial para eliminar es 2.71.

d. El nivel F, la tolerancia o VIN no suficiente para un cálculo adicional.

Sin embargo, su capacidad predictiva es inferior a la que ofrecía la función en base a la aspiración y es por este motivo por el que el modelo discriminante no la considera, pero sigue siendo un factor importante. En el caso de la duración de calado, independientemente de su significatividad, la función calculada llega a clasificar correctamente un 72,4% de los casos frente a los 82,2% que se consiguen con la aspiración. Es por este motivo por el que el modelo multivariante originalmente lo deja fuera de la función ya que no aporta más información que la aspiración por si sola para predecir mortalidad.

Resultados de clasificación[a,c]

	Resultado final Muerte	Pertenencia a grupos pronosticada		Total
		,0	1,0	
Original	Recuento	,0	135	49	184
		1,0	10	20	30
	%	,0	73,4	26,6	100,0
		1,0	33,3	66,7	100,0
Validación cruzada[b]	Recuento	,0	135	49	184
		1,0	10	20	30
	%	,0	73,4	26,6	100,0
		1,0	33,3	66,7	100,0

a. 72,4% de casos agrupados originales clasificados correctamente.

b. La validación cruzada se ha realizado sólo para aquellos casos del análisis. En la validación distintos a dicho caso.

c. 72,4% de casos agrupados validados de forma cruzada clasificados correctamente.

2- MODELO PARA LA ESTIMACIÓN DE LA SEVERIDAD DEL EMBOLISMO:

Las variables que mostraron diferencias significativas y por tanto se incluyeron en el modelo para predecir gravedad fueron la profundidad y la presencia de aspiración, siendo descartadas tanto la LCC (tamaño), la temperatura del agua como la duración de calado.

Variables entradas/eliminadas[a,b,c,d]

Escalón	Especificado	Lambda de Wilks							
						F exacta			
		Estadístico	df1	df2	df3	Estadístico	df1	df2	Sig.
1	Profundiudad (m)	,855	1	3	205,000	11,609	3	205,000	,000
2	Aspiración	,764	2	3	205,000	9,801	6	408,000	,000

En cada paso, se entra la variable que minimiza la lambda de Wilks global.

a. El número máximo de pasos es 8.

b. La F mínima parcial para entrar es 3.84.

c. La F máxima parcial para eliminar es 2.71.

d. El nivel F, la tolerancia o VIN no suficiente para un cálculo adicional.

Para el caso de la severidad en función de la profundidad vemos que tal y como se mostraba en el análisis univariante, efectivamente hay una tendencia a que se agrave el cuadro con la profundidad de calado ($p<0.001$) aunque hay bastante solapamiento entre los grupos de gravedad.

En el caso de la gravedad asociada a la presencia de aspiración como variable categórica con dos únicas categorías, tendríamos la siguiente tabla cruzada donde se obtiene un valor de Chi-cuadrado <0.001, aunque vemos que los resultados están bastante descompensados en las diferentes categorías:

Gravedad x Imagen *Aspiración tabulación cruzada

Recuento

		Aspiración		Total
		0	1	
Gravedad x Imagen	0	170	11	181
	1	81	26	107
	2	73	21	94
	3	47	2	49
Total		371	60	431

Los coeficientes de función calculados para ambas variables fueron los siguientes:

Coeficientes de función de clasificación

	Gravedad x Imagen			
	,0	1,0	2,0	3,0
Profundiudad (m)	,083	,112	,131	,164
Aspiración	2,515	4,404	5,118	4,191
(Constante)	-2,585	-3,725	-4,541	-5,951

Funciones discriminantes lineales de Fisher

Sin embargo, dado el elevado solapamiento entre los grupos, en la validación cruzada la función calculada sólo pudo clasificar correctamente un 38,3% de los casos según las categorías, lo que indicaría que el grado de asociación no es suficiente potente para establecer un modelo predictivo robusto.

Resultados de clasificación[a,c]

			Pertenencia a grupos pronosticada				
	Gravedad x Imagen		,0	1,0	2,0	3,0	Total
Original	Recuento	,0	75	4	6	25	110
		1,0	33	3	17	29	82
		2,0	16	4	13	33	66
		3,0	8	0	1	23	32
	%	,0	68,2	3,6	5,5	22,7	100,0
		1,0	40,2	3,7	20,7	35,4	100,0
		2,0	24,2	6,1	19,7	50,0	100,0
		3,0	25,0	,0	3,1	71,9	100,0
Validación cruzada[b]	Recuento	,0	75	4	6	25	110
		1,0	33	2	18	29	82
		2,0	16	5	12	33	66
		3,0	8	0	2	22	32
	%	,0	68,2	3,6	5,5	22,7	100,0
		1,0	40,2	2,4	22,0	35,4	100,0
		2,0	24,2	7,6	18,2	50,0	100,0
		3,0	25,0	,0	6,3	68,8	100,0

a. 39,3% de casos agrupados originales clasificados correctamente.

b. La validación cruzada se ha realizado sólo para aquellos casos del análisis. En la validación cruzada,

c. 38,3% de casos agrupados validados de forma cruzada clasificados correctamente.

B –EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA DCS EN CONDICIONES DE CAMPO A BORDO DE BUQUES PESQUEROS

Los resultados de las campañas realizadas en Brasil ya fueron publicados en 2020 (Parga et al., 2020). En el presente trabajo de Tesis Doctoral presentamos un nuevo análisis y reinterpretación de los resultados integrando a esta cohorte inicial, la nueva casuística generada en las campañas de Italia. Esta información y análisis global, está aún pendiente de publicar.

B.1- HALLAZGOS DEL EXAMEN FÍSICO

Todas las tortugas de este estudio conjunto (n=62), fueron tortugas bobas excepto una tortuga olivácea que fue capturada durante una de las campañas en Brasil. La mayoría fueron de hecho tortugas bobas subadultas (juveniles grandes) o adultas (LCC 42-82 cm en el caso de Italia y 62,5-93,5 cm en los ejemplares de Brasil). Todos los animales mostraron una buena condición corporal (con una abundante presencia de grasa en la zona axilar y cervical, que también fue patente en el estudio ecográfico), excepto uno de los ejemplares capturados en Italia que presentaba una herida antigua bastante extensa en el cuello y una condición corporal media baja. Ocho tortugas tenían heridas superficiales recientes, sin sangrado, en la región cervical, ventral y lateral a la cabeza, y/o en aletas compatibles con la abrasión por el aparejo de pesca (1 en Italia y 7 en Brasil) y 2 tortugas (ambas de Brasil) tenían prolapso agudo de cloaca.

Además, en Italia 3 animales capturados presentaron lesiones externas crónicas. Por un lado, el ejemplar juvenil anteriormente mencionado que tenía una gran herida en la zona dorsal del cuello, afectando a la piel y al tejido subcutáneo, de aspecto crónico y de origen desconocido (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Otro presentaba una cicatriz, aparentemente por enmallamiento, en la aleta delantera derecha y el último individuo presentaba una amputación de la aleta trasera izquierda ya cicatrizada.

Por regla general el examen externo de las tortugas capturadas no reveló ningún signo clínico evidente que pudiera estar asociado de manera exclusiva con el desarrollo de EG. La mayoría de los individuos se mostraron poco activos al alcanzar superficie, aumentando el nivel de actividad con el tiempo y en algunos casos en respuesta a la manipulación por parte del personal. En algunos casos, el estado de consciencia estaba notablemente reducido, pero por lo general sí respondían tras la manipulación específica para evaluar su condición y reflejos. En el caso de las tortugas que murieron a bordo, la mayoría partieron de una escasa respuesta a los estímulos inicialmente que disminuyó aún más con el tiempo hasta que se perdió completamente. Aproximadamente el 5% de los individuos (3 de 62)

mostraron signos de hiperreactividad o fueron especialmente activos durante la exploración, el muestreo y el marcado.



Figura 129: Tortuga cubierta de limo en cubierta tras ser extraída del copo, esperando para ser explorada por el investigador tan pronto los pescadores terminen de volver a calar las redes.



Figura 130: Dos tortugas bobas antes de ser evaluadas por los investigadores mientras los pescadores terminaban de clasificar el pescado.

Algunos individuos mostraron signos neurológicos claros probablemente relacionados con el desarrollo de EG, como consecuencia de los posibles daños neurológicos asociados a la distribución de

las burbujas de gas. Además de la disminución de la respuesta a los estímulos, estos especímenes podían presentar una flexión permanente del cuello, inclinación de la cabeza o retracción de las aletas.



Figura 131: Ejemplar con signos neurológicos mostrando, inmovilidad, respuesta pobre a estímulos, retracción y lateralización de la cabeza.

Del total de los animales explorados de inicio, 20 mostraron un examen neurológico normal (35,71%), 20 (35,71%) mostraron un examen neurológico anormal con respuesta reducida a los reflejos (estuporosos), 16 (25,8%) estaban en estado comatoso y 6 (9,7%) animales no se pudieron evaluar en el momento en que se recuperaron de la red al ser transferidos al veterinario horas más tarde desde otros barcos. 3 ejemplares (2 de los incluidos en el grupo del nivel de consciencia normal y uno incluido en el grupo de los estuporosos) mostraron en un momento dado respuestas o comportamientos de hiperreactividad o descoordinación tras haber pasado algún tiempo en cubierta.

Un total de 45 animales que mostraron una condición suficientemente buena (en cuanto a nivel de consciencia, actividad y estabilidad en la respiración) fueron liberados con las consiguientes marcas. De las 16 tortugas que llegaron más débiles o comatosas, 11 (68,75%) murieron en cubierta (a bordo), y 5 (31,25%) se recuperaron parcialmente en cubierta y pudieron ser liberadas con marcas. De estas 5, 2 murieron en los días 28 y 24 post liberación y en las otras 3 falló la marca por lo que no pudimos saber si verdaderamente alguna llegó a sobrevivir más de 30 días. A demás de las 20 que entraron estuporosas, 3 tortugas que entraron con cierta actividad terminaron también muriendo en cubierta, 2 de ellas con claros signos de aspiración de agua de mar. La mortalidad global a bordo alcanzó por tanto el 22,58%, siendo muy superior en Brasil (46,43%) comparado con Italia (2,94%) donde la mayoría de los animales sí que se pudieron reintroducir. De las 3 tortugas que desarrollaron signos de hiperreactividad tras permanecer 1 hora a bordo (mostrando una apertura inmediata de su boca y tratando de morder al tocarles el cuello o reaccionando con una retirada muy repentina de las aletas

al contacto), las 3 pudieron ser marcadas y liberadas, sobreviviendo 2 de ellas por encima de los 30 días mientras que una dio señal de muerte en el día 28 post liberación.

B.2- HALLAZGOS DEL EXAMEN ECOGRÁFICO

En el caso de Brasil la ecografía fue realizada únicamente durante el primer viaje del verano y el primer viaje de invierno debido a la limitada disponibilidad de ecógrafos. Sin embargo, esta técnica diagnóstica sí pudo ser aplicada en todas las campañas desarrolladas en el Adriático. En total, 49 tortugas fueron examinadas por ecografía (16 en Brasil y 33 en Italia). Los exámenes iniciales en Italia se realizaron en 28 casos, entre los 15- 25 minutos tras haber hecho superficie, cuando se subía y abría el copo en cubierta y se podía tener acceso a los animales. En los 5 casos restantes los animales procedían de otras embarcaciones y se entregaban al veterinario varias horas después (entre 7 y 19h). En las campañas de Brasil el tiempo hasta el primer examen fue más variable, aunque generalmente se pudo completar entre los 15-54 primeros minutos en cubierta en 14 de las tortugas mientras que las restantes 2 fueron examinadas inicialmente a los 70 y 277 minutos post captura, respectivamente al proceder también de otros buques de apoyo.

Todas las tortugas sujetas a estudio fueron positivas a la presencia de gas intravascular (100% de los casos estudiados). Además en todos los casos, la presencia de gas fue ya patente en la primera exploración (en muchos casos a tan solo 15 minutos después de subir a la superficie).

En algunos casos, especialmente durante el estudio en Italia donde el acceso a los animales fue más rápido y el corazón se pudo explorar mejor, este órgano parecía ser el primero en el cual se podían detectar las burbujas de gas, pero la cantidad de gas aparentemente se incrementaba (acumulaba) con el tiempo en mayor proporción en la región del riñón. Debido a su gran tamaño, no fue posible evaluar el corazón o vasos sanguíneos principales en muchas de las tortugas principalmente durante el estudio de Brasil en que las tortugas fueron más grandes. La cantidad de EG en los tejidos y vasos sanguíneos aumentaron en todos los casos estudiados con el tiempo en superficie durante el período de seguimiento antes de su devolución al mar. Las puntuaciones finales del nivel de EG establecido por ecografía durante el período de evaluación sirvieron para realizar una categorización preliminar de los individuos estableciendo los grupos en base a la severidad. En el caso de Brasil además se pudo confirmar la severidad de los casos en base a la necropsia en aquellos animales que murieron a bordo.

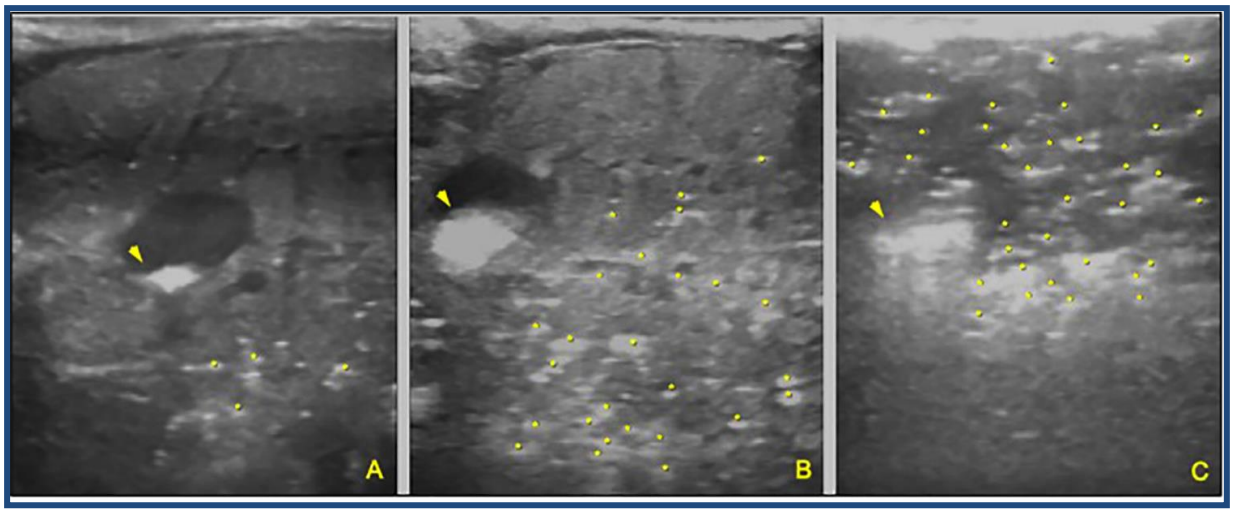


Figura 132: Secuencia temporal de la ecografía renal en la misma región en intervalos de 30-40 minutos de la tortuga olivácea capturada en Brasil. Se puede apreciar el incremento de gas patológico en la región a medida que pasa el tiempo. Vena porta renal en sección transversal (flecha). Acúmulos de gas en parénquima renal que generan una imagen hiperecogénica (asteriscos). A) Grado de embolismo leve a los 20 minutos aproximadamente de haber salido a superficie. B) Embolismo moderado: la cantidad y distribución del gas en vasos y parénquima es mayor. C) Embolismo severo: gran cantidad de gas infiltrado en el tejido impidiendo la correcta visualización ecográfica. Este animal terminó muriendo y los hallazgos se pudieron confirmar en necropsia. Fuente: (Crespo-Picazo et al., 2020).

B.3- HALLAZGOS DEL EXAMEN POST MORTEM

En base a los exámenes de necropsia que se pudieron realizar durante las campañas en Brasil, todas las tortugas que murieron tenían EG severo de acuerdo con la cantidad de gas observado y su distribución anatómica (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014). Nada más abrir el plastrón ya eran observables burbujas de gas intravascular en la vena abdominal media y en pequeños vasos sanguíneos periféricos. El gas fue además fácilmente evidenciable al acumularse en grandes cantidades en los atrios cardiacos, seno venoso y pulmonar, tronco mesentérico y venas esplénicas. 6 de 7 (85,71%) tortugas que murieron durante el verano-otoño en las campañas de Brasil, también mostraban evidencia de aspiración de agua, incluyendo edema bronquial y traqueal (n=5) y grandes cantidades de líquido en los pulmones (n=6). En invierno, 2 de 5 animales necropsiados a bordo (40%) mostraron edema o líquido en el tracto respiratorio. En Italia, aunque no se realizó necropsia del único animal que murió a bordo, no se observaron signos de aspiración de agua ni en este ni en ninguno de los animales vivos tal y como sí sucedió en Brasil.



Figura 133: Macho adulto de tortuga boba capturado en Italia que murió a bordo tras recuperarse comatoso del aparejo. En esta ocasión a diferencia de los animales que causaron baja en Brasil, no se pudo llevar a cabo la necropsia porque la logística a bordo del barco no lo permitía.

B.4- RESULTADOS DEL MARCAJE

48 animales sobrevivieron y fueron considerados aptos para su liberación a partir de la primera hora a bordo (2 horas en Brasil). 45 de estas tortugas fueron equipadas con las marcas de sPAT: 10 animales murieron en los 10 primeros días y 3 animales más murieron antes del primer mes. El registro de las marcas no proporcionó información detallada sobre el perfil de buceo de las tortugas marcadas, pero al menos en base a las marcas de Brasil de las que se pudo recuperar la información sabemos que todos los animales vivos, bucearon a profundidades máximas de 9 a 138 metros por lo menos una vez al día durante el periodo de seguimiento. En el caso de los animales marcados en Italia los supervivientes bucearon entre un máximo de 36 y 117 metros. Un animal que terminó muriendo a los 9 días post liberación, no llegó a superar los 17 metros en ninguna de sus inmersiones y otro animal que murió en el día 28 post-liberación, aunque mantuvo un perfil de buceo diario en profundidad por debajo de los 50m durante prácticamente la totalidad del periodo, sí que mostró un buceo más superficial los dos últimos días antes de morir.

En el caso de Italia se colocaron 31 marcas de un total de 34 animales capturados. Un animal murió a bordo y no pudo ser marcado mientras que dos de las tortugas capturadas examinadas y muestreadas en el último día de trabajo no pudieron ser marcadas ya que no quedaban ya marcas disponibles. De esas 31 marcas, sólo funcionaron correctamente reportando información al satélite después de su liberación 22 de ellas (tasa de fallo del 29%). En 10 de los casos la marca se liberó de forma prematura, lo que implicaría en base a su programación la muerte del individuo. En los 12 casos restantes la marca se liberó después de completar el periodo preestablecido de 30 días, apuntando a una supervivencia

mínima de al menos ese período. Las 9 marcas restantes no emitieron ningún tipo de señal sin una razón justificada (fallo por causas desconocidas).



Figura 134: Tres tortugas ya marcadas durante el curado de la resina epoxi ya listas para ser liberadas de vuelta al mar

En el caso de Brasil se llegaron a colocar 14 marcas en los 28 animales y todas funcionaron correctamente (tasa de fallo del 0%) enviando señal de supervivencia por encima de los 30 días en 11 casos y de muerte antes de 30 días en los 3 casos restantes. 13 animales más murieron a bordo y no se pudieron reintroducir ni marcar y un animal adicional se reintrodujo sin marca ya que no quedaban más emisores disponibles en ese viaje.



Figura 135: Tortugas ya marcadas libres en cubierta mientras continua el arrastre esperando a ser liberadas.

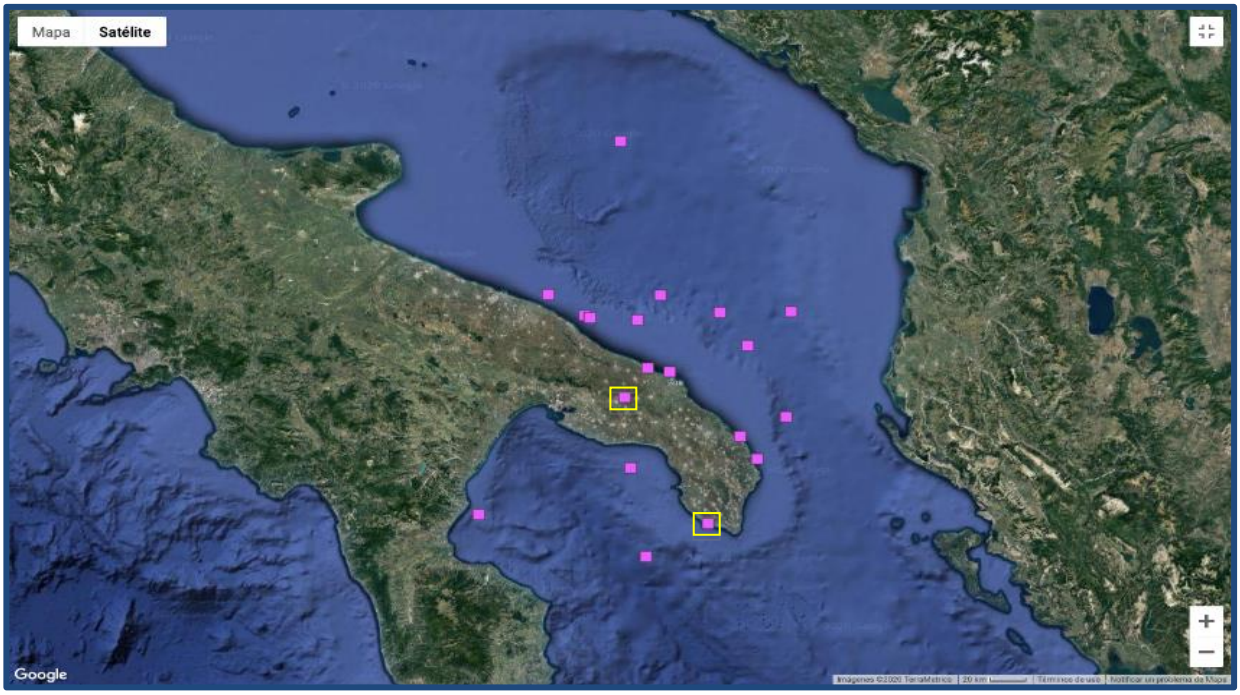


Figura 136: Ultima posición enviada a través de los satélites Argos por los emisores colocados en Italia en el momento en que se liberaron de las tortugas marcadas. Nótese que algunos emisores marcan posición en tierra y esto se puede deber a la falta de precisión del satélite con este sistema (la precisión en cuanto a la posición GPS es muy superior) y/o a la recogida de las marcas por pescadores o público general. Los recuadros en amarillo indican marcas recuperadas por público presente en la zona y mantenidas en tierra.

B.5- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS DATOS

De 28 tortugas estudiadas en Brasil durante las campañas de pesca, 14 fueron capturados durante el verano-otoño y 14 durante el invierno. Esto lleva a que las capturas se produjesen en un amplio rango de temperaturas entre 13,75 y 24ºC. Sin embargo, todas las capturas en Italia acontecieron en invierno entre los meses de enero y febrero, cuando el agua estaba mucho más fría: entre 4 y 14ºC según reportaron pescadores a bordo y entre 9,5 y 15,8ºC según registraron algunas de las marcas colocadas en los animales. Las temperaturas promedio de la superficie del mar en la región para los meses de enero y febrero de acuerdo con seatemperature.org (consultada en abril 2021) fueron de 13,9ºC (12,6-15,2ºC en enero y 13,1 y 14,8ºC en febrero).

En el caso de las 36 tortugas bobas capturadas accidentalmente a lo largo del proyecto en Italia, 34 pasaron a formar parte del estudio mientras que las 2 tortugas restantes quedaron excluidas del estudio por diferentes motivos. Con una no pudo seguirse el protocolo originalmente establecido porque hubo que dar prioridad al estudio de otros dos individuos capturados en la misma red de arrastre (mismo lance), con el fin de no interferir con la operativa normal del buque pesquero. La otra

tortuga apareció muerta y moderadamente descompuesta en la red, por lo que se llegó a la conclusión de que probablemente había muerto días antes como consecuencia de interacción con pesca, se hundió y volvió a ser recapturada de nuevo por otro arrastrero, no siendo por tanto de interés particular en el proyecto actual.

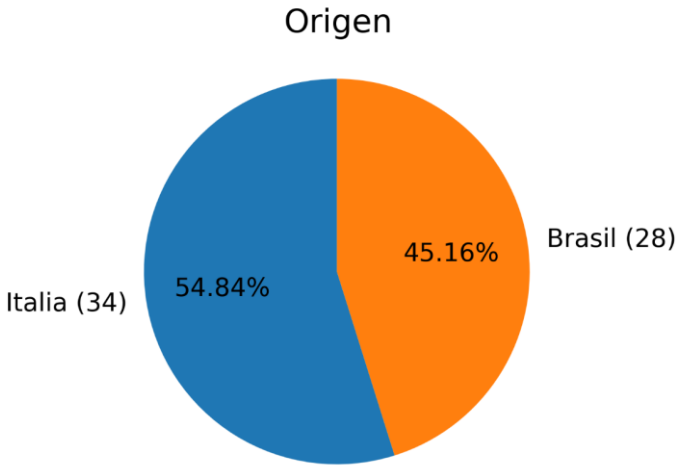


Figura 137: Tortuga recuperada ya muerta de las redes con signos de descomposición moderada, hinchada y con pérdida de escudos de la zona de la cabeza.

A continuación, se presenta una tabla resumen con los resultados agrupados según las categorías de severidad de las campañas de Italia y Brasil a bordo de buques de pesca. En cada región, la severidad de embolismo detectado por ecografía se evaluó como: 1=Leve, 2=Moderado, 3=Severo, NE=No evaluado. Se incluye el número de casos totales por categoría, los casos compatibles con aspiración de agua de mar, los casos que se llegan a marcar, los que sobreviven más de 30 días tras su liberación, los que mueren antes de los 30 días tras su liberación, los que mueren en cubierta antes de ser marcados, los casos inciertos en los que se desconoce el resultado al no llevar marca o por fallo de esta y el total de casos que termina muriendo en cada categoría. Asimismo, se incluye valores promedios y rangos (mínimos y máximos) en cuanto a la paramétrica ambiental para las diferentes pesquerías de Brasil e Italia incluyendo: duración de los arrastres (minutos), profundidades de arrastre (metros), temperatura del agua reportada en superficie (ºC), tiempo desde el ascenso a superficie hasta el primer examen (minutos) y tiempo total en superficie desde el ascenso hasta su devolución al mar (horas).

Origen	Grupo Severidad EG antes de liberar	Nº Total Casos por categoría (n)	Nº Casos con Aspiración	Nº Casos Marcados	Nº Casos que sobreviven 30 días	Nº Casos que mueren antes de 30 días	Nº Casos que mueren en cubierta	Nº Casos inciertos (liberados vivos sin marca o esta falla)	Total casos con resultado final Muerte	Duración arrastre (min) Promedio (Rango)	Profundidad arrastre (m) Promedio (Rango)	Temp agua (ºC) Promedio (Rango)	Tiempo desde superficie a primer examen (min) Promedio (Rango)	Tiempo en superficie hasta liberación (h) Promedio (Rango)
Italia (n=34)	1	0	/	/	/	/	/	/	/	270	47,98 (22-91)	9,56 (4-14)	20 (15-25)	4,36 (1-19)
	2	21	0	20	8	7	0	6	7					
	3	12	0	10	4	3	1	4	4					
	NE	1	0	1	0	0	0	1	0					
Brasil (n=28)	1	2	1	1	0	1	1	0	2	256,82 (184-302)	44,2 (17-81)	18,67 (13,75-24)	49,7 (9-375)	2,23 (1,83-4)
	2	4	1	3	3	0	1	0	1					
	3	10	6	3	2	1	6	1	7					
	NE	12	4	7	6	1	5	0	6					

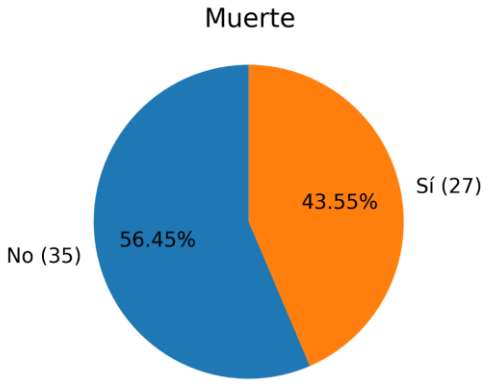
A continuación se muestra un diagrama con el número total y la proporción de casos procedentes de Italia y Brasil incluidos en el estudio a bordo de buques pesqueros.



La tasa de mortalidad mínima a nivel global fue del 43,55% en base a las 27 tortugas de las que se pudo confirmar la muerte (muerte a bordo o en base a la señal de los emisores). La tasa de supervivencia mínima para el primer mes a nivel global fue de 37% de las capturas en base a que solo 23 marcas emitieron señal de vida por encima del día 30 post-liberación. En el grupo de los animales con aspiración de agua (12 casos, todos ellos capturados en aguas de Brasil), la mortalidad fue del 100%:

11 casos murieron a bordo y otro que se pudo recuperar parcialmente y liberar con marca satélite, envió señal compatible con muerte a los 6 días tras la liberación.

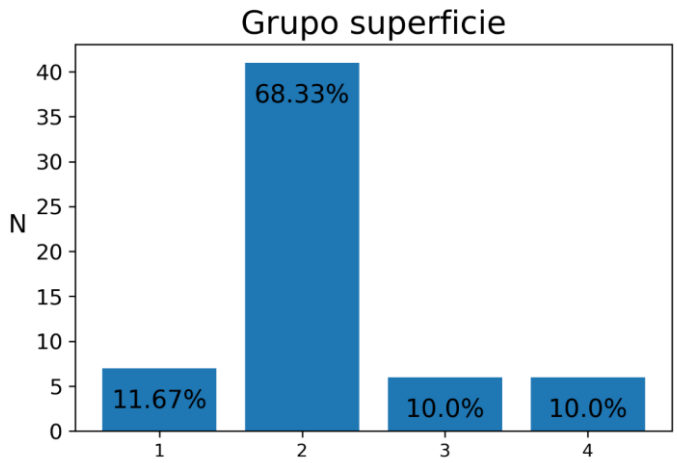
A continuación se muestra un diagrama del número total y la proporción de bajas de las que se pudo tener constancia en el estudio a bordo de buques pesqueros. Esto establecería la mortalidad mínima acontecida durante el estudio ya que de algunos animales no se pudo constatar la muerte, pero tampoco su supervivencia dado que se produjeron fallos en algunos emisores satelitales.



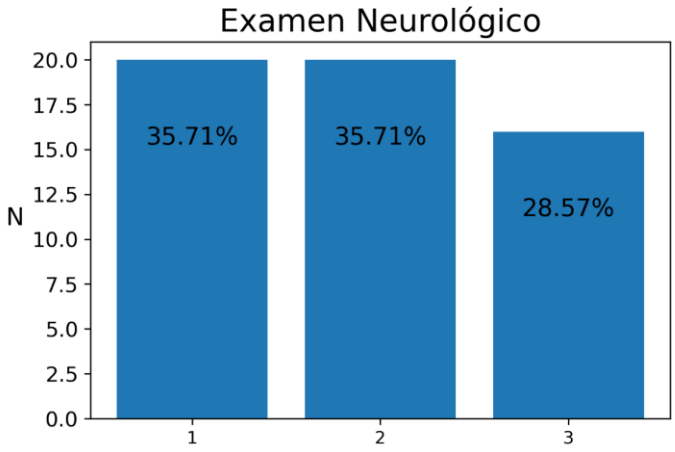
En cuanto a la evaluación del posible impacto de la estancia en superficie, a continuación, adjuntamos una tabla con un resumen de los casos categorizados en los 4 grupos en base a la permanencia en cubierta con los resultados finales de muerte o supervivencia para cada uno de los grupos.

Tabla 5: Resumen de los casos categorizados en los 4 grupos en base a la permanencia en cubierta con los resultados finales de muerte o supervivencia para cada uno de los grupos. Podemos ver que la agrupación de casos es muy heterogénea concentrándose una inmensa mayoría (68,33%) en el Grupo 2.

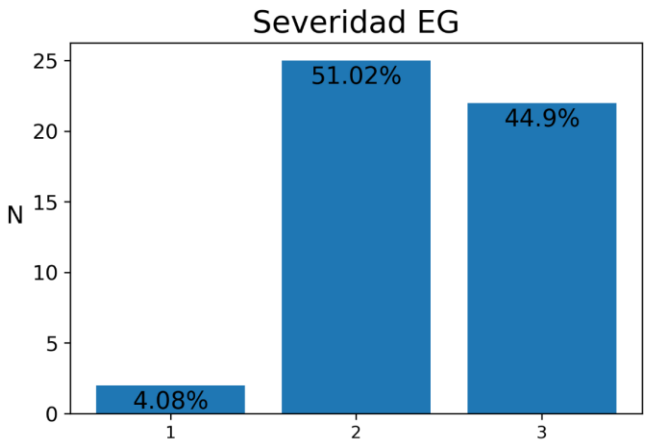
Categorías en base a Tiempo en superficie	Nº Total Casos por categoría (n)	Nº Casos que se liberan	Nº Casos totales que mueren	Mortalidad global (%)	Mortalidad post-liberación (%)	Nº Casos que sobreviven	Supervivencia global (%)	Supervivencia post-liberación (%)
GRUPO 1 ≈ 1h (max 1,5h)	7	7	2	28,57%	28,57%	5	71,43%	71,43%
GRUPO 2 ≈ 2h (1,5-3h)	41	28	22	53,66%	39,13%	14	34,15%	60,87%
GRUPO 3 (3-7h)	6	5	2	33,33%	25,00%	3	50,00%	75%
GRUPO 4 (>7h)	6	6	1	16,67%	50%	1	16,67%	50%



En referencia al examen neurológico en el momento de subir a los animales a bordo, adjuntamos un gráfico con los casos de los animales que llegaron vivos categorizados en 3 grupos: normales (1), estuporosos (2) o comatosos (3).



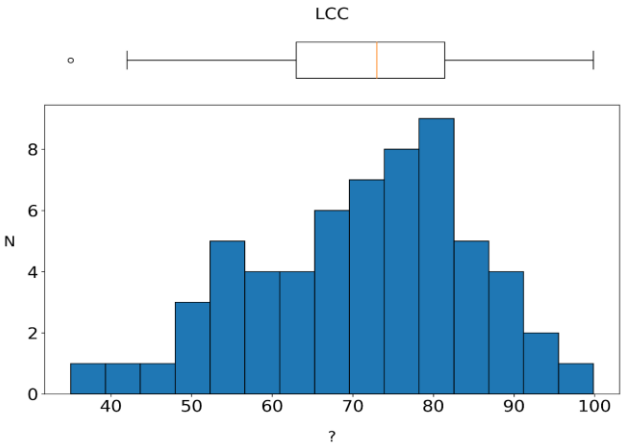
En relación a la severidad del embolismo cuantificado por ecografía en el momento de la liberación, los casos leves (1), moderados (2) y graves (3) se distribuyeron de la siguiente forma:

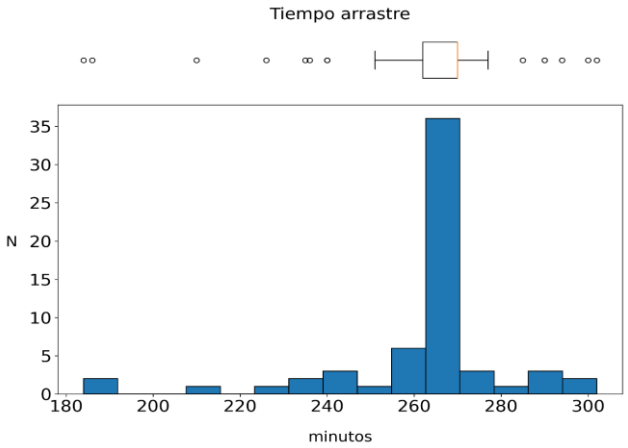


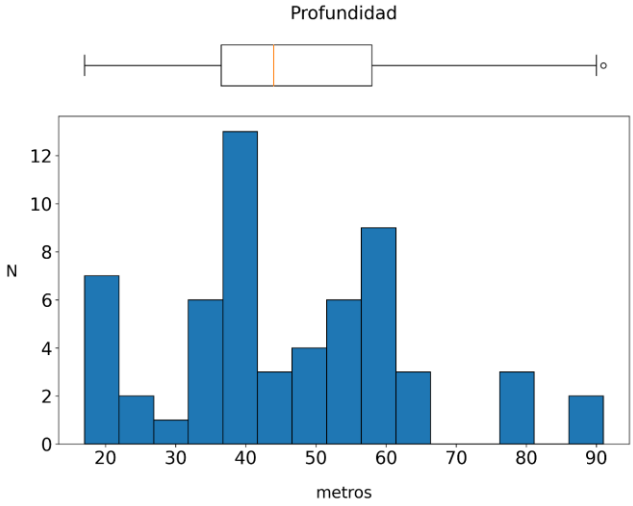
En cuanto a la distribución de las variables ambientales e individuales en la muestra, a continuación, adjuntamos las siguientes tablas resumen y los histogramas de distribución correspondientes de las variables continuas incluidas en el estudio:

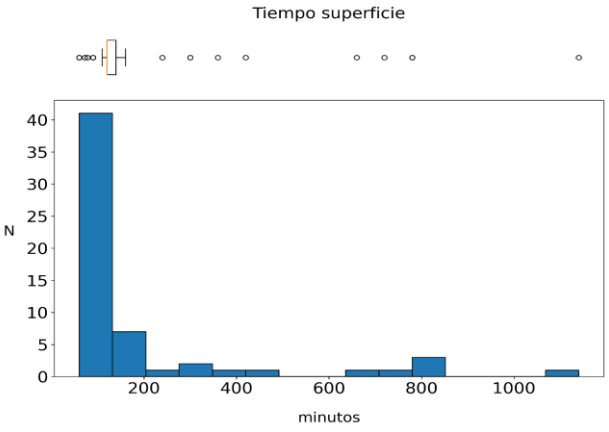
		N	%
Muerte			
	Sí	27	43.55
	No	35	56.45
Severidad EG			
	0	0	0.00
	1	2	4.08
	2	25	54.02
	3	22	44.90
Origen			
	Brasil	28	45.16
	Italia	34	54.84
Aspiración Agua			
	Sí	12	19.35
	No	50	80.65
Tiempo superficie agrupado			
	1 (hasta 1.5 horas)	7	11.67
	2 (entre 1.5 y 3 horas)	41	68.33
	3 (entre 3 y 7 horas)	6	10.00
	4 (más de 7 horas)	6	10.00
Examen Neurológico			
	1 (Normal)	20	35.71
	2 (Estuporosas)	20	35.71
	3 (Comatosas)	16	28.57

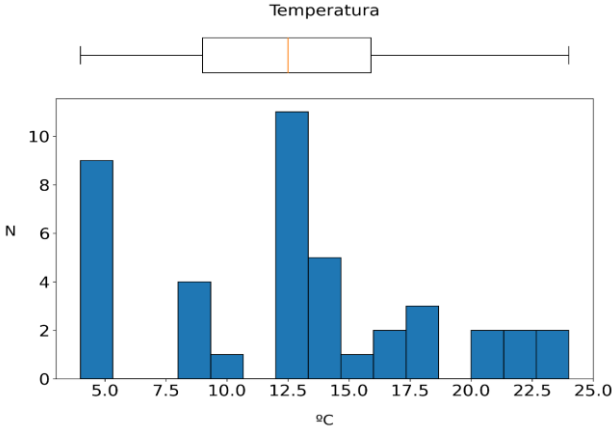
	count	mean	std	min	25%	50%	75%	max
LCC	61	71.34	13.92	35.00	63.00	72.99	81.42	99.84
Tiempo arrastre	61	263.95	21.37	184.00	262.00	270.00	270.00	302.00
Profundidad	59	46.25	17.84	17.00	36.50	44.00	58.00	91.00
Tiempo superficie	59	200.95	222.46	60.00	120.00	120.00	139.50	1140.00
Temperatura	42	12.60	5.55	4.00	9.00	12.50	15.90	24.00


LCC
N
?


Tiempo arrastre
N
minutos


Profundidad
N
metros


Tiempo superficie
N
minutos


Temperatura
N
ºC

B.6- ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS CON LA DCS Y LA MORTALIDAD EN CONDICIONES DE CAMPO

ESTADÍSTICA ANALÍTICA UNIVARIANTE

1- ASOCIACIÓN CON LA MORTALIDAD:

Para el análisis de las variables categóricas con la mortalidad se empleó la prueba de chi cuadrado. Como se observa en la siguiente tabla, las variables que mostraron diferencias significativas entre grupos ($p < 0,001$) fueron la aspiración de agua de mar y la condición en el examen neurológico ($p < 0,001$), mientras que el origen, la severidad del EG o en tiempo en superficie agrupado no implicaron cambios significativos.

	Muerte Sí (n=27)		Muerte No (n=35)		chi2	% supervivencia
	N	%	N	%	p-valor	
Origen	27	43.55	35	56.45	0.089	
Brasil	16	59.26	12	34.29		42.86
Italia	11	40.74	23	65.71		67.65
Severidad EG	21	33.87	28	45.16	0.115	
1	2	9.52	0	0.00		0.00
2	8	38.10	17	60.71		68.00
3	11	52.38	11	39.29		50.00
Tiempo superficie agrupado	27	43.55	33	53.23	0.233	
1 (hasta 1.5 horas)	2	7.41	5	15.15		71.43
2 (entre 1.5 y 3 horas)	22	81.48	19	57.58		46.34
3 (entre 3 y 7 horas)	2	7.41	4	12.12		66.67
4 (más de 7 horas)	1	3.7	5	15.15		83.33
Aspiración agua	27	43.55	35	56.45	< 0.001	
No	15	55.56	35	100		70.00
Sí	12	44.44	0	0		0.00
Examen Neurológico	26	41.94	30	48.39	< 0.001	
1 (Normal)	3	11.54	17	56.67		85.00
2 (Estuporosas)	10	38.46	10	33.33		50.00
3 (Comatosas)	13	50.00	3	10.00		18.75

Para el caso del análisis de las variables cuantitativas y el estudio de su asociación con la mortalidad, el test de Mann-Whitney no reveló diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los parámetros estudiados.

	Muerte Sí (n=27)			Muerte No (n=35)			p-valor
	N	Mediana	Rango intercuartil	N	Mediana	Rango intercuartil	
Temperatura	14	13.38	12.00 - 13.90	28	12.00	8.00 - 16.95	0.493
Tiempo superficie	26	120.00	120.00 - 120.00	33	120.00	90.00 - 240.00	0.497
Profundidad	25	40.00	37.00 - 55.00	34	47.00	36.50 - 59.50	0.656
LCC	27	72.99	60.18 - 81.87	34	71.71	63.00 - 80.81	0.811
Tiempo arrastre	27	270.00	262.00 - 270.00	34	270.00	267.00 - 270.00	0.831

2- ASOCIACIÓN CON LA SEVERIDAD DEL EG:

Dado que todos los ejemplares estudiados (el 100%) mostraron una imagen ecográfica compatible con EG, no se pudo llevar a cabo el análisis estadístico pertinente para valorar los factores de riesgo potencialmente asociados con el desencadenamiento de la enfermedad. Sin embargo, sí pudimos valorar que factores estaban asociados con la severidad del embolismo evaluado mediante ecografía.

En el caso de las variables categóricas, tal y como se evidencia en la tabla adjunta, se pudo evidenciar mediante la prueba de chi cuadrado, una asociación entre la severidad del embolismo y el origen del estudio (Brasil/Italia) (p=0.012), el estado de consciencia en el examen neurológico (p=0.012) y con la presencia de aspiración de agua (p=0.041) no existiendo diferencias significativas en base al tiempo transcurrido en superficie agrupado (p>0.05).

	p_value
Origen	0.012
Examen Neurológico	0.012
Aspiración agua	0.041
Tiempo superficie agrupado	0.938

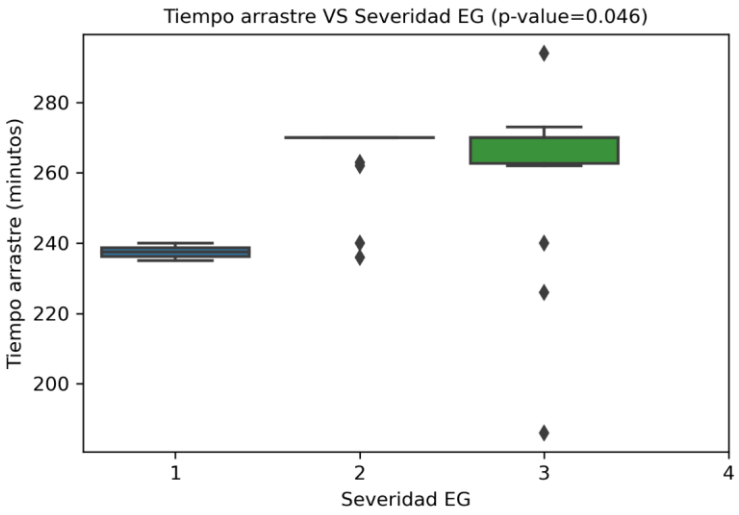
Para las variables cuantitativas, se utilizó el método de Kruskal-Wallis evidenciando una asociación directa entre la duración del arrastre y la severidad del embolismo (p=0,046), no existiendo diferencias entre los grupos en base al tamaño, la temperatura del agua, la profundidad o el tiempo transcurrido en superficie.

	p_value
Tiempo arrastre	0.046
LCC	0.389
Temperatura	0.680
Profundidad	0.764
Tiempo superficie	0.918

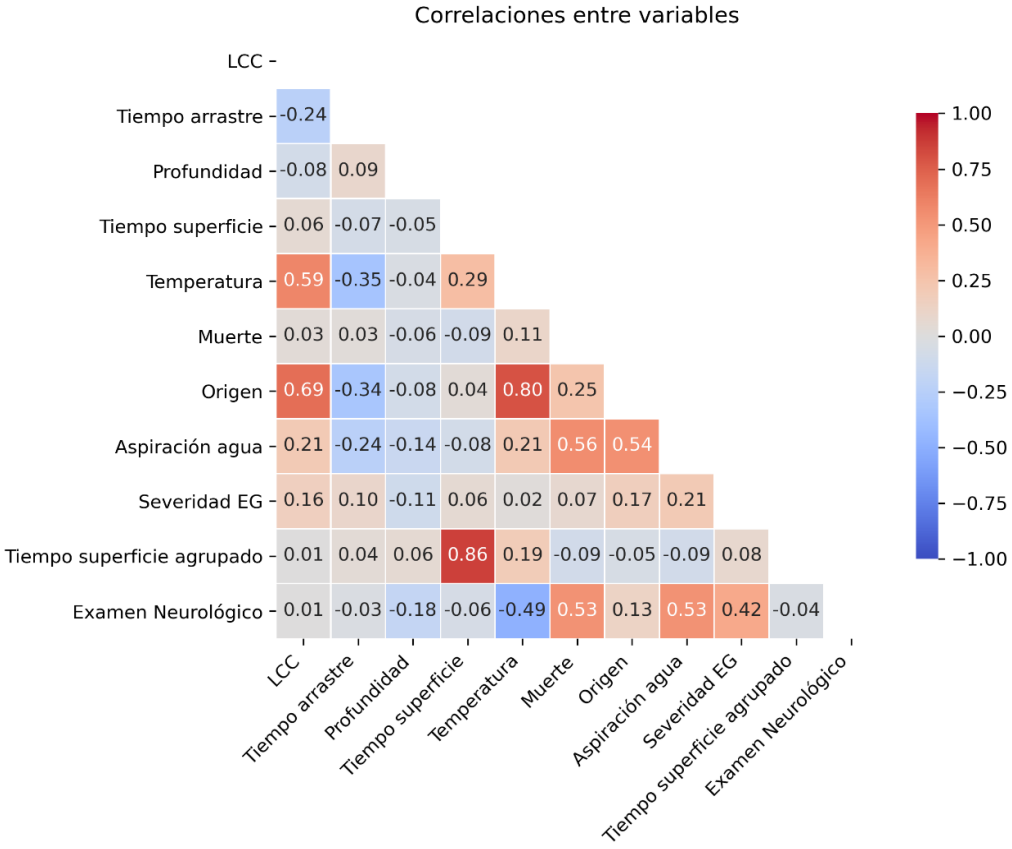
El análisis post hoc de la variable tiempo de arrastre determinó que las diferencias se encontraban entre los grupos 1 y 2 (p valor 0.047), mientras que las diferencias entre los grupos 1 y 3 se aproximaban, aunque no alcanzaban la significatividad (p valor 0,065).

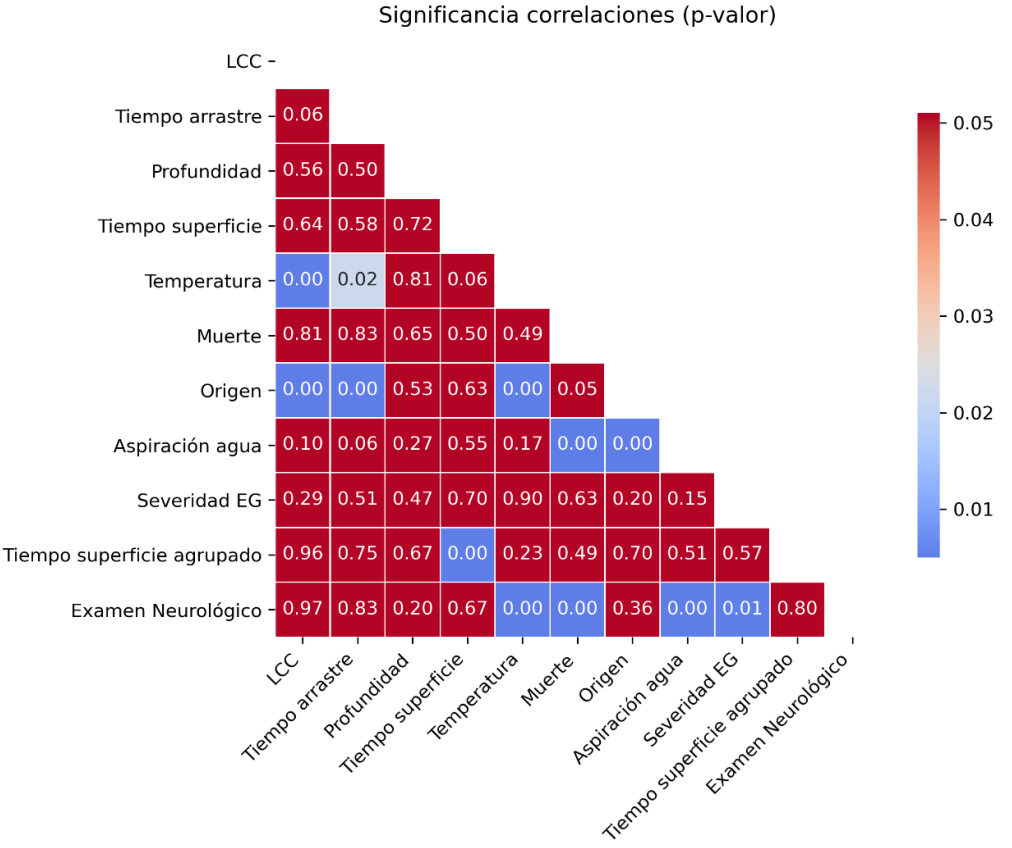
Severidad EG	1	2	3
1	1	0.047	0.065
2	**0.047**	1	0.951
3	0.065	0.951	1

Estas diferencias se pueden observar con mayor claridad en el siguiente diagrama de cajas:



3- CORRELACIÓN ENTRE LAS DISTINTAS VARIABLES (SPEARMAN):





Para determinar la correlación entre las distintas variables se calculó el coeficiente rho de Spearman, así como el p-valor asociado a cada coeficiente.

Como se muestra en los mapas de calor se observa una alta correlación entre el origen (Brasil o Italia) y la temperatura del agua, la aspiración de agua o el tamaño de las tortugas (LCC). El p-valor entre el origen y la mortalidad fue de 0,05, justo en el límite de la significatvidad. Temperatura, aspiración de agua y tamaño de la tortuga ofrecieron valores significativamente más elevados para la cohorte procedente de Brasil. Los resultados del examen neurológico también se asociaron significativamente a la presencia de aspiración de agua, a la supervivencia, a la severidad del embolismo y a la temperatura.

ESTADÍSTICA ANALÍTICA MULTIVARIANTE

MODELO PARA LA ESTIMACIÓN DE LA MORTALIDAD:

En lo referente al análisis discriminante para la valoración de la mortalidad el sistema consideró validos 37 de los 62 casos pues en el resto faltaba al menos una variable discriminatoria.

De las 4 variables estudiadas (LCC, duración de calado, profundidad, temperatura y aspiración de agua de mar) sólo la presencia de aspiración mostró diferencias significativas entre grupos para predecir la mortalidad:

Variables entradas/eliminadas[a,b,c,d]

Escalón	Especificado	Lambda de Wilks							
						F exacta			
		Estadístico	df1	df2	df3	Estadístico	df1	df2	Sig.
1	Aspiración/Respiratory tract edema	,949	1	1	35,000	1,892	1	35,000	,178

En cada paso, se entra la variable que minimiza la lambda de Wilks global.

a. El número máximo de pasos es 10.

b. La F mínima parcial para entrar es 1.8.

c. La F máxima parcial para eliminar es 1.5.

d. El nivel F, la tolerancia o VIN no suficiente para un cálculo adicional.

En este caso, el programa calculó los siguientes coeficientes de función para predecir mortalidad en base a la variable aspiración:

Coeficientes de función de clasificación

	Resultado final Muerte	
	,0	1,0
Aspiración/Respiratory tract edema	,000	2,917
(Constante)	-,693	-,805

Funciones discriminantes lineales de Fisher

Sin embargo, en la validación cruzada la función calculada solo pudo clasificar correctamente un 56,5% de los casos de muerte en base a la aspiración lo que indicaría una vez más que el grado de asociación no es suficiente potente para establecer un modelo predictivo robusto.

Resultados de clasificación[a,c]

		Pertenencia a grupos pronosticada			
	Resultado final Muerte	,0	1,0	Total	
Original	Recuento	,0	35	0	35
		1,0	15	12	27
	%	,0	100,0	,0	100,0
		1,0	55,6	44,4	100,0
Validación cruzada[b]	Recuento	,0	35	0	35
		1,0	27	0	27
	%	,0	100,0	,0	100,0
		1,0	100,0	,0	100,0

a. 75,8% de casos agrupados originales clasificados correctamente.

b. La validación cruzada se ha realizado sólo para aquellos casos del análisis. En la validación

c. 56,5% de casos agrupados validados de forma cruzada clasificados correctamente.

C –IMPACTO DE LA DCS EN NUEVAS ESPECIES DE TORTUGAS MARINAS

A continuación se detallan los hallazgos que nos llevaron al diagnóstico de descompresión en 3 nuevas especies de tortugas marinas según publicamos recientemente (Crespo-Picazo et al., 2020):

C.1- TORTUGA LAÚD

La LCC de esta tortuga fue de 136 cm. Esta medida se correspondería con la de un subadulto (Stewart et al., 2007). La captura accidental se produjo durante un arrastre de 2,5 horas a 37 m de profundidad en la provincia de Castellón. Se realizó un examen físico en cubierta ya en puerto alrededor de 4 h después de la captura y ascenso a superficie. El animal mostró un sangrado leve procedente de algunas abrasiones en las aletas delanteras y quillas de la región dorsal del caparazón, pero sin evidencia de otras lesiones o significativas. La condición corporal era buena, con evidentes depósitos de grasa en la región del cuello, región pectoral, y fosas inguinales. No se observaron respuestas de comportamiento anormales durante los exámenes físico o neurológico. El examen ecográfico de los vasos renales y del sistema venoso porta-renal a través de la fosa prefemoral reveló una imagen compatible con la presencia de burbujas de gas hiperecoicas intravasculares (la mayoría móviles), con algunas fijas (estáticas) dejando artefactos en cola de cometa. En la región del cuello, los senos cervicales dorsales no mostraron evidencias de burbujas de gas. Otras estructuras internas no eran accesibles debido al gran tamaño del animal y la limitación en la capacidad de penetración del haz de ultrasonidos. En base de la limitada cantidad de gas intravascular presente en las regiones que fueron accesibles, se estimó un grado de embolismo leve.

C.2- TORTUGA VERDE

La LCC de esta tortuga fue de 43 cm, correspondiendo por tanto a un ejemplar juvenil (Limpus and Walter, 1980). La red de trasmallo donde la tortuga fue capturada estuvo ubicada a 5 m de profundidad durante 12 h. El examen físico realizado 4 h después de hacer superficie no mostró signos clínicos patológicos o lesiones externas evidentes. La condición corporal fue buena. Un examen ecográfico reveló burbujas circulantes en atrio derecho y vasos adyacentes al riñón. El parénquima renal también presentó manchas hiperecogénicas con artefactos en cola de cometa. Las radiografías convencionales también revelaron pequeñas cantidades de gas en la región del riñón. En base a estos hallazgos, el caso fue categorizado como EG leve. La tortuga permaneció en las instalaciones del centro de rescate hasta completar la rehabilitación y fue liberada 6 semanas después de la admisión.

C.3- TORTUGA OLIVÁCEA

La LCC de esta tortuga fue de 71,9 cm, correspondiendo esta talla a la de un ejemplar adulto (Zug et al., 1998). El animal fue capturado por un aparejo de arrastre durante una de las campañas de Brasil a 19 m de profundidad operando en una duración de 4,5 h. El examen físico reveló varias heridas superficiales recientes por abrasión causadas por la red, un aguijón de raya clavado en la piel contigua a la base de la cola y un prolapso de cloaca reciente. La condición corporal fue buena. En la primera ecografía tomada cuando el animal llegó a la cubierta, se detectó la presencia de manchas hiperecogénicas compatibles con burbujas de gas intravascular en la región renal y en los vasos de la región cervical. En una segunda exploración 30 minutos más tarde, las burbujas de gas eran aún más claramente detectables en el parénquima y los vasos renales y una hora más tarde, la cantidad de gas era tan severa que prácticamente imposibilitó el examen ecográfico renal. En base a la cantidad de gas presente, el animal fue clasificado como un caso de EG severo. La severidad del embolismo fue confirmada posteriormente en la necropsia ya que la tortuga murió 2 h después de alcanzar la superficie. Los principales hallazgos incluyeron la abundante presencia de gas dentro de las cámaras cardiacas, el seno venoso, las venas mesentéricas, los riñones, el bazo, y la mayoría de la vasculatura del resto de órganos internos.

También fueron detectables lesiones macroscópicas asociadas con la insuficiencia circulatoria y la falta de perfusión debido al impedimento del flujo sanguíneo normal en varios órganos y tejidos, incluyendo la congestión segmentaria de la mucosa del tracto intestinal, la marcada congestión de extensas zonas de parénquima renal, y zonas de congestión y hemorragia en el parénquima pulmonar.

Estos hallazgos no sólo confirmarían la presencia de EG sino también las lesiones asociadas a un cuadro de DCS. La necropsia fue realizada dentro de las 12 primeras horas tras la muerte revelando además que la tortuga era una hembra adulta con oviductos bien desarrollados y aparentemente funcionales.



Figura 138: Examen ecográfico a bordo del ejemplar de tortuga laúd capturado accidentalmente por redes de arrastre en aguas de la Comunidad Valenciana donde se pudo comprobar la presencia de burbujas de gas en la vasculatura renal. Nótese la presencia de algunas abrasiones superficiales en aletas y caparazón.

IV- DISCUSIÓN:

El presente capítulo sobre el impacto de la DCS en las tortugas lo hemos dividido en 3 grandes bloques: impacto poblacional en base a la información obtenida en centros de recuperación, impacto poblacional según estudios realizados a bordo de buques pesqueros e impacto en diferentes especies de tortugas.

La experiencia acumulada hasta la fecha en base a todos los animales recibidos en nuestro CR por múltiples causas, nos indica que únicamente las tortugas marinas procedentes de barcos de arrastre y redes de trasmallo (todos entre los 3 y 100m de profundidad), han mostrado signos de EG compatibles con DCS durante la exploración clínica y/o examen patológico. La presencia de gas intravascular no ha podido ser detectada en ningún otro caso en tortugas que hayan ingresado en el centro por otros muchos motivos no relacionados con la pesca ni con la inmersión forzada (p.ej. neumonía, colisión con embarcaciones, enmallamiento en basuras marinas, etc.), lo que por el momento parece sugerir que ésta es una condición fuertemente vinculada a pesquerías o al menos a la inmersión forzada.

En nuestra región, los arrastreros de Castellón fueron las principales pesquerías que trajeron tortugas al CR. Esto se podría deber a la disponibilidad de una mayor flota pesquera pero también a la autorización excepcional para poder arrastrar en la plataforma de Castellón (que es muy tendida) a una profundidad menor a 50m con respecto a las otras dos provincias que tienen limitado el arrastre como en el resto del Mediterráneo a profundidades por debajo de los 50m donde las posibilidades de encuentro con las tortugas se reduciría. Considerando que las tortugas bobas pasan la mayor parte del tiempo a profundidades por encima de los 40m (Polovina et al., 2004), el arrastre más somero implica un mayor riesgo de encuentro e interacción con las tortugas que se alimentan en la zona nerítica (Alessandro and Antonello, 2010; Casale, 2011; Casale et al., 2008; Gerosa and Casale, 1999; Lucchetti et al., 2019) y muy especialmente en los meses de invierno donde pasan más tiempo reposando en el fondo (Bentivegna et al., 2003). Sin lugar a dudas, la colaboración del sector pesquero ha sido decisiva en la consecución de este trabajo. El trasmallo generalmente implicó profundidades menores (profundidad promedio 14,48m) pero con mayores tiempos de inmersión (promedio 11,67h), llevando a una menor incidencia y menor severidad de casos de embolismo, pero a un mayor número de casos de aspiración y una mayor mortalidad asociadas (35,26% y 32,05% respectivamente). El arrastre sin embargo en Comunidad Valenciana implicó profundidades mayores de faenado (profundidad promedio 46,87m) con tiempos más cortos de inmersión del aparejo (promedio 2,53h) que condujeron a una mayor frecuencia de casos (62,52% de los ingresos) y mayor gravedad de embolismo, pero con

una mayor supervivencia (del 90,81%) en gran medida entendemos que gracias al tratamiento recibido en el CR.

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos a partir de la casuística en Comunidad Valenciana nos indica que tanto la presencia de aspiración de agua de mar, la tipología de la pesquería, así como la profundidad del arrastre o el tamaño de la tortuga (peso o la LCC) fueron factores asociados al riesgo de desencadenamiento de la enfermedad y a su severidad, lo que completa de algún modo nuestros estudios previos donde sólo habíamos podido asociar el riesgo de embolismo con la profundidad (Fahlman et al., 2017a). Destacar que la duración del calado no se asoció con el riesgo o severidad del EG. El tamaño de las tortugas sí se asoció a su vez con la profundidad de calado, obteniendo ejemplares de mayor tamaño en arrastres (y especialmente por debajo de los 50m) frente al trasmallo lo que podría llevar a un mayor grado de embolismo en estos casos. Así, a futuro debemos seguir indagando si ambos factores (profundidad y talla) se vinculan directamente con el riesgo de padecimiento de la enfermedad de forma independiente o si la significatividad obtenida se debe a que ambos están asociados entre sí siendo la profundidad o el tipo de pesquería el principal factor determinante.

Considerando todos los datos de pesca accidental que llegaron a nuestro CR y en la línea de lo que ya describimos en nuestro estudio previo publicado en 2017 (Fahlman et al., 2017a), tanto la profundidad como la presencia de aspiración de agua se asociaron con la severidad de la descompresión mientras que la profundidad, la duración de calado y la aspiración se asociaron con la mortalidad. Así, el arrastre que trabaja generalmente a una mayor profundidad tendió a registrar una mayor severidad en los casos de EG pero el trasmallo registró una mayor mortalidad debido a su mayor duración de calado y mayor índice de aspiración. Los casos donde se daba aspiración y EG de forma concomitante fueron los que registraron un mayor índice de mortalidad, ya que entre otras cosas, se necesita preservar la función respiratoria para poder facilitar la eliminación del nitrógeno absorbido y resolver el embolismo (Francis and Simon, 2003; James and Jain, 2017; Mahon and Regis, 2014b; Portugues et al., 2018).

Evidenciamos por tanto que existen diferencias importantes entre los factores que afectan al desencadenamiento del EG y la mortalidad en el trasmallo y el arrastre, ya que son dos pesquerías muy diferentes. En el caso del trasmallo el riesgo de sufrir embolismo fue menor pero la mortalidad asociada mayor y ni mortalidad ni el riesgo de embolismo se vieron necesariamente afectados ni por la profundidad ni por la duración de calado en este arte. Sin embargo, en el arrastre, la profundidad es un factor decisivo vinculado tanto a la mortalidad como a la severidad del embolismo generado mientras que la duración de calado sólo se asoció a la mortalidad, pero no a la presencia o gravedad del EG. La presencia de aspiración de agua de mar que sí fue determinante en todos los casos (tanto en arrastre como en trasmallo) tanto para la mortalidad como en su asociación a la presencia del EG.

Probablemente el incremento del número de casos analizados en este estudio haya podido facilitar una mayor significatividad estadística frente a algunos de los factores ambientales e individuales que ya apuntábamos en nuestro primer estudio de 2017 pero en los que no conseguimos demostrar diferencias significativas debido al limitado tamaño muestral (Fahlman et al., 2017a). Así, en referencia a la mortalidad, podemos decir que los factores asociados incluirían la severidad del embolismo, la presencia de aspiración de agua, la duración de calado (en el arrastre), la temperatura del agua y una vez más la profundidad del arrastre. Estos son factores críticos a tener en cuenta de cara al establecimiento de posibles medidas de mitigación de cara a reducir la mortalidad post-interacción. Se ha demostrado estadísticamente que la severidad del embolismo es un factor de riesgo asociado a una mayor mortalidad. El peso o la talla de las tortugas en este caso queda fuera como factor de riesgo. Aunque sí se asoció a un mayor riesgo de embolismo, no existieron diferencias significativas en la mortalidad dependiendo de las tallas. Quizá, las tortugas de mayor talla que efectivamente pudieron verse más fácilmente afectadas por el embolismo presentaban una mayor tolerancia a la enfermedad lo que hizo que no se tradujese en mortalidad. El presente trabajo apunta por primera vez a la temperatura como factor potencialmente de riesgo asociado directamente a la mortalidad (no así al riesgo o severidad de la DCS) lo que contrasta con los estudios previos de Sasso y Epperly (2006) donde se concluye que temperaturas más bajas generarían una mayor mortalidad. Como comentaremos más adelante en esta discusión, nuestros trabajos a bordo de buques pesqueros también apuntarían en esta dirección.

Más allá de los estudios con los animales del CR, en el presente trabajo nos pareció pertinente tratar de estudiar el embolismo y sus efectos bajo las verdaderas condiciones en las que se manejan los animales en las pesquerías a escala global. En estos casos, los animales son recuperados del aparejo junto con las capturas y se devuelven al agua por regla general, pocos minutos después (Lewison et al., 2013; Maxwell et al., 2018; Parga et al., 2017; Wallace et al., 2013). Las opciones de tratamiento de las capturas accidentales en centros de recuperación son más la excepción que la norma (Parga et al., 2017; Parga et al., 2020). Por este motivo y en referencia a los trabajos presentados, es muy importante tener en cuenta 3 aspectos clave a la hora de tratar de comparar los resultados entre los estudios realizados en el CR del Oceanográfic (apartado A de este Capítulo) y a bordo de los buques pesqueros (apartado B). Las principales diferencias se corresponden fundamentalmente al tiempo transcurrido hasta el examen del paciente, el tiempo total que el animal permanece en superficie hasta su devolución al agua y a los recursos disponibles y técnicas aplicadas a la hora de establecer un diagnóstico y poder aplicar un tratamiento. Estos 3 aspectos clave, introducen un sesgo importante en cuanto a poder comparar niveles de embolización o tasas de mortalidad/supervivencia entre los diferentes estudios y por eso decidimos analizarlos por separado.

En los estudios en la Comunidad Valenciana, todos los ejemplares fueron evaluados a nivel clínico y en caso de muerte también mediante estudio anatomopatológico. El EG fue un hallazgo frecuente afectando a algo más de la mitad de los animales (57,24%) considerando tanto los ingresos vivos como los muertos. Esta cifra es comparable con la que habíamos publicado previamente en estudios sobre esta misma población, pero con un menor tamaño muestral en los que se veía afectado entre el 43-55% de las tortugas capturadas con red de arrastre a profundidades de 25-75 metros (Fahlman et al., 2017a; García-Párraga et al., 2014). La tasa de mortalidad asociada a los casos embolismo fue del 28,9%, frente a una mortalidad prácticamente 10 veces menor (del 3,76%) de los casos procedentes de pesquerías pero que no se vieron afectados por la enfermedad. De hecho, como hemos visto estadísticamente, la severidad del EG fue un factor directamente relacionado con la mortalidad. En contraste con lo anterior, en ambos estudios a bordo de buques pesqueros, la incidencia de EG en tortugas capturadas fue del 100%. Con el fin de diversificar la casuística y conocer mejor las posibles implicaciones de los factores ambientales en la enfermedad, durante el presente trabajo se plantearon sendos estudios de campo en zonas geográficas muy diferentes, incluyendo una más allá del Mediterráneo. Todas las tortugas examinadas por ecografía y *post mortem* mostraron evidencia de presencia de burbujas intravasculares sin excepción. Una posible explicación a esta elevada incidencia comparada con los estudios previos en Comunidad Valenciana son los largos tiempos de arrastre utilizados en Brasil e Italia (de un promedio de 4,5h frente a los 2,5h de nuestra región), los cuales pudieran favorecer una mayor absorción de nitrógeno y la formación posterior de burbujas en sangre y tejidos. Además, el EG fue evidente desde un principio, tan solo 15 minutos después de alcanzar la superficie. El inicio de la formación de burbujas de gas parece por tanto tener lugar inmediatamente después de que las tortugas se exponen a una menor presión ambiental hasta salir a superficie y va empeorando con el tiempo. En contraste con nuestras observaciones previas y trabajos anteriores con tortugas en aguas de la Comunidad Valenciana (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2017), en los estudios a bordo el corazón (cuando se pudo explorar), fue en muchos casos el órgano donde mejor se llegó a evidenciar la presencia de gas mediante ecografía en fases iniciales. Sin embargo, con el tiempo, el hígado y sobre todo el riñón fueron los tejidos explorados que más gas tendieron a acumular gas. En el caso de los buques, en la fase temprana de la enfermedad, el aumento de gas no pareció estar asociado con la aparición de signos clínicos evidentes a corto plazo, al menos en la mayoría de los especímenes examinados. Por contraposición, las tortugas examinadas durante nuestros estudios en Valencia fueron evaluadas hasta 8-10 horas después de la captura. Es posible que algunos casos leves de EG fueran capaces de eliminar las burbujas de gas en las horas previas al examen, identificándose, así como animales negativos a su llegada al CR (y de ahí una posible menor incidencia) cuando en el buque el gas sí hubiese sido visible. A pesar de los resultados ofrecidos en nuestro primer trabajo (Fahlman et al., 2017a), y los nuevos datos aquí

aportados, nuestra comprensión de la evolución y resolución de EG en condiciones naturales, así como los diversos factores que pueden influir en esta condición y sus resultados clínicos, sigue siendo muy limitada y se requiere de estudios ulteriores.

En los trabajos realizados a bordo, la gravedad de EG se incrementó rápidamente durante el período de seguimiento en cubierta hasta su liberación, con la mayoría de los animales alcanzando grado de embolismo de 3 sobre 3 (embolismo grave) antes de la suelta y particularmente en los animales capturados durante los meses más cálidos en el caso del estudio de Brasil. Esta progresión fue menos evidente en animales capturados durante la temporada de invierno o con las capturas de Italia donde el agua estaba mucho más fría. Sin embargo, el caso de Brasil no hubo ninguna asociación aparente entre la temporada de tortugas y las tasas de mortalidad, ni tampoco hemos podido evidenciar estadísticamente que la temperatura actuase como factor de riesgo en el desencadenamiento o agravamiento de la enfermedad o estuviese vinculada a la mortalidad cuando tratamos todos los datos de campo de forma conjunta (como sí se ha podido deducir a partir del análisis con las tortugas de Comunidad Valenciana). Sin embargo, sí que es patente que para el caso de Italia donde las profundidades y duraciones de arrastre promedio fueron comparables con las de Brasil, pero el agua estaba mucho más fría (a un promedio de 9,56ºC y 18,67ºC respectivamente), la tasa de mortalidad a bordo fue muy inferior (2,94% frente a 46,43%), lo que podría apuntar hacia una mayor tasa de supervivencia de los ejemplares (al menos a muy corto plazo) a temperaturas de agua más bajas. Algunas temperaturas de la superficie del agua reportadas por las pesquerías en Italia fueron realmente bajas y podrían no reflejar la temperatura real a la que se desenvolvía la tortuga, pero en cualquier caso los registros de temperatura de algunas de las marcas recuperadas también se movieron en un rango bajo con mínimos registrados de 9,5ºC. La menor mortalidad asociada a las bajas temperaturas podría tener sentido ya que según la Ley de Henry la solubilidad de los gases en los líquidos es inversamente proporcional a la temperatura, por lo que, si la tortuga sobresaturada de nitrógeno se calienta en verano al sacarla del agua y ser expuesta en la cubierta, podría acelerar el agravamiento del cuadro. Además las bajas temperaturas podrían contribuir de forma efectiva al mantenimiento de las reservas de oxígeno y a incrementar la tolerancia a la hipoxia en los tejidos induciendo una bajada del metabolismo (Lutz et al., 1989), lo que podría explicar nuestras observaciones tanto en Comunidad Valenciana como a bordo de buques pesqueros. Sin embargo Sasso y Epperly (2006) en sus estudios previos de capturas accidentales, registraron una tasa de mortalidad más alta de las tortugas capturadas por arrastreros en los meses más fríos, por lo que sería interesante saber cuántos animales de los que murieron en ese estudio, lo hicieron por causas asociadas con DCS. Independientemente de la temperatura, diversos factores como el nivel de actividad, la velocidad de ascenso, el volumen de capturas en el copo, la velocidad del arrastre, el perfil de buceo previo, o

posibles interacciones previas con pesca podrían influir en la mortalidad y dificultar la interpretación de los resultados, especialmente cuando el tamaño muestral es tan limitado.

La tasa de mortalidad global de tortugas examinadas en los estudios realizados en Brasil e Italia fue de un 57,14% y de un 32,35% respectivamente. Sin embargo, si consideramos únicamente la tasa de mortalidad post liberación (de los animales reintroducibles) los valores se invierten (21,43% en Brasil y 32,26% en Italia). Este resultado se podría justificar porque la mortalidad en Brasil fue más aguda muriendo muchos de ellos en las 2 primeras horas sin dar tiempo a su liberación. Sin embargo, los tiempos medios de espera en Italia fueron menores y muchas tortugas se devolvieron vivos entre la primera y segunda hora, muriendo más posteriormente una vez en el mar. A nivel general y teniendo en cuenta el pequeño tamaño muestral disponible, podemos decir que los porcentajes de mortalidad aguda y post liberación asociados a la interacción por arrastre en estas pesquerías son ciertamente elevados, y que muchas de las tortugas liberadas en aparente buena condición, terminaron muriendo.

A partir del análisis estadístico de los casos estudiados en campo en pesquerías de Brasil e Italia, los únicos factores de riesgo asociados a la mortalidad de los individuos capturados fueron una vez más la presencia de aspiración de agua de mar y el nivel de consciencia en la evaluación neurológica inicial. Estos dos factores junto con el origen de los animales (Brasil/Italia) y el tiempo de arrastre, también mostraron significatividad frente a la severidad del embolismo que generaron los animales. Los resultados de los exámenes neurológicos, aunque fueron muy variables con un amplio rango de respuestas y patrones que no se relacionaban siempre con el grado de EG detectado, podrían ser relevantes a la hora de inducir una sospecha de embolismo grave en los casos comatosos o estuporosos y desde luego como elemento predictivo negativo de cara a la supervivencia final tal y como se revela en el análisis estadístico. En 3 animales, la respuesta fue considerada como hipersensible o hiper-reactiva, con reacciones inmediatas de los animales para intentar morder o retirando las aletas de forma brusca al intentar tocarlos. Esas respuestas concordarían con los hallazgos reportados previamente en las tortugas marinas con EG en España (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017) y se cree que podrían ser indicativas de dolor severo causado por la acumulación de burbujas de nitrógeno en diferentes tejidos y especialmente asociadas al SNC (Barratt et al., 2002; Francis and Mitchell, 2003; Francis and Simon, 2003; Schipke et al., 2006; Vann et al., 2011). Nuestros hallazgos contrastan con los de Maxwell *et al.*, (2018) quien reportó que, de 3 tortugas capturadas accidentalmente y recuperadas en estado comatoso, al menos 2 sobrevivieron 30 días después de su liberación tras su recuperación parcial a bordo. En nuestro caso, de los 16 animales que se recuperaron comatosos del aparejo, 13 (el 81,25%) murieron en cubierta o antes de cumplir los 30 días post liberación, y en los 3 restantes falló la marca por lo que no podemos confirmar que llegase a sobrevivir ninguna de ellas. En base a nuestra experiencia tanto en centros de recuperación como a

bordo de los buques pesqueros, los casos de embolismo que se muestran comatosos tienen una supervivencia muy baja salvo que se les aplique un tratamiento específico idealmente con oxígeno hiperbárico. En el estudio de Maxwell, sin embargo, la profundidad y los tiempos del arrastre fueron menores en comparación con los parámetros de los estudios de Brasil e Italia (12 a 17 y 17 a 91 metros, y de 1,5 a 4,5 horas, respectivamente) y no se evaluó la presencia de EG. La gran mayoría de las tortugas capturadas durante el estudio en Brasil que se recuperaron comatosas o con bajo grado de actividad y que terminaron muriendo resultaron estar afectadas tanto por EG como por la aspiración de agua en los pulmones. Nuestro trabajo revela que el EG siempre conllevan un peor pronóstico cuando concurre con la aspiración de agua de mar (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014). Incluso teniendo posibilidad de uso de cámara hiperbárica la mortalidad asociada a este cuadro combinado para los animales que llegan vivos al CR es del 20%, alcanzando un 58,33% de bajas si se consideran también los que llegan ya muertos.

En los estudios de campo a bordo de buques pesqueros prácticamente todas las tortugas desarrollaron EG moderada o severa, en base a los parámetros medidos por ecografía. Si bien este grado de EG en tortugas que llegan a centros de rehabilitación describimos que en muchos casos tiende a ser fatal cuando no hay tratamiento hiperbárico (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014), casi un 80% de las tortugas liberadas en el estudio de Brasil y un 67% de los ejemplares liberados de Italia con marcas funcionales sobrevivieron al menos 30 días tras la liberación.

Una posible explicación de la menor mortalidad de la que se podría esperar en los estudios de campo dada la severidad del embolismo detectado en la inmensa mayoría de los casos evaluados es que las tortugas se encontrasen en fase *gas-off* con abundante gas intravascular formando microburbujas por todo el cuerpo, lo que podría conducir a una sobrestimación del grado de EG cuando está basado exclusivamente en ecografía. La metodología de clasificación como vimos inicialmente diferiría de la que aplicamos en los CR. En estos centros, por un lado, los animales se reciben varias horas después del evento descompresivo, ya en fase de aclaramiento, con menor cantidad burbujas circulantes de menor tamaño, pero con gran cantidad de gas intravascular acumulado en determinadas regiones (formando grandes acúmulos de gas por coalescencia de las microburbujas en espacios como los vasos renales, el seno venoso, el atrio derecho o las venas hepáticas, por ejemplo). En estos casos avanzados, la mayoría de las burbujas de gas móviles pueden haber ya desaparecido al haber sido eliminadas de la circulación a través de los pulmones mediante la respiración o al quedar retenidas en lechos vasculares que pudieran actuar como filtros. El nitrógeno residual aún pendiente de ser eliminado tiende a mantenerse acumulado en ciertos órganos y tejidos pudiendo ser menos patente en ecografía. Estos casos tardíos, en base estrictamente a la imagen ecográfica, se podrían interpretar como con un menor grado de EG aun cuando originalmente durante el *gas-off* habrían sido calificados como más

graves en base a la imagen ecográfica. De ahí la importancia de cara a la valoración del gas, de complementar siempre que sea posible las técnicas de imagen ecográfica con la radiografía simple e idealmente el TC que permiten una capacidad mucho mejor de cuantificación y evaluación de la distribución del gas. Sin embargo, esto no es viable en el trabajo a bordo. Los estudios en CR evaluarían a los animales mediante múltiples técnicas de imagen en una fase de estabilización-eliminación (horas después de la descompresión) mientras que los estudios a bordo de arrastreros evaluarían a los pacientes exclusivamente con ecografía durante la fase de generación activa de burbujas que estarían saliendo de la disolución ante el cambio de presión al ascender (*gas-off*), lo que hace que los estudios a la hora de categorizar la severidad de los pacientes no sean comparables. Sin embargo, independientemente de las posibles discrepancias en la clasificación final de la cantidad de gas presente, en casi todos los casos se alcanza un grado de embolismo importante, lo que implicaría una condición potencialmente grave para los individuos afectados.

Además, al hablar de DCS siempre debemos de tener en cuenta que en todos los casos (en centros de recuperación o animales liberados directamente al mar) se desconocen las posibles secuelas que puedan quedar en los supervivientes. Los casos atendidos en los centros de rehabilitación que son categorizados como EG moderada y severa, son aquellos casos que acumulan tal cantidad de gas desde un inicio, que el déficit circulatorio y la insuficiencia cardiaca hacen que la eliminación del nitrógeno se vea muy comprometida durante las primeras 8-12 horas tras hacer superficie, y que al llegar a la clínica todavía mantengan gran cantidad de burbujas gas intravascular circulantes.

Otra posible hipótesis para tratar de justificar una mayor supervivencia a corto plazo de los casos moderados y severos que son detectados a bordo en comparación con casos de una severidad similar diagnosticados en centros de recuperación, es que una vez liberadas, las tortugas pudieran tener cierta capacidad de bucear activamente a cierta profundidad con el fin de recomprimirse voluntariamente, consiguiendo una rápida reducción del tamaño de las burbujas (que permitiría la reperfusión parcial de ciertas regiones) y facilitando la redisolución de burbujas de nitrógeno formadas tras el ascenso. Mediante repetidas inmersiones a cierta profundidad y tratando de minimizar el tiempo en superficie, las tortugas podrían llegar a gestionar con éxito la eliminación de las burbujas de nitrógeno de una forma mucho más rápida y eficaz que si se mantienen de forma permanente en superficie en un CR. Esto podría reducir el riesgo de acumulación de grandes cantidades de nitrógeno insoluble en circulación, facilitando la perfusión normal de órganos y tejidos y evitando posibles lesiones isquémicas que se agudizarían con el tiempo en superficie. Sin embargo, en base a los casos estudiados, el análisis estadístico de los datos en este caso no revela que el tiempo en superficie esté asociado con la mortalidad, quizá también en parte por el limitado tamaño muestral y por la distribución tan heterogénea de los casos en las diferentes categorías. Sería recomendable por precaución, en

cualquier caso, que en condiciones de campo cuando no existan posibilidades de diagnóstico ni tratamiento específico en centros de recuperación, se devolvieran los animales de forma inmediata al mar siempre y cuando éstos se muestren conscientes, activos y capacitados para bucear con el fin de incrementar su supervivencia o al menos minimizar la acumulación de gas en vasos y tejidos.

En este sentido, en los estudios de campo, los emisores *Pop-Ups* empleados no permitían la evaluación de los perfiles completos de buceo profundidad/tiempo con el fin de demostrar o descartar esta hipótesis. Sin embargo, en los estudios en Brasil e Italia donde algunas marcas registraron al menos la profundidad máxima diaria, los datos sí mostraron que todos los animales liberados bucearon diariamente al menos entre 9 a 138 metros. A solo 10 metros de profundidad, el volumen de gas patológico se reduce a la mitad facilitando mucho la reperfusión de órganos y tejidos. A profundidades de en torno a los 100m, el volumen de gas patológico quedaría reducido a menos de 1/10 parte. Sin embargo, en base a algunos datos preliminares obtenidos no se pudo evidenciar una tendencia en la que en los primeros días los animales registrasen las inmersiones más profundas en un intento de recomprimir más rápido las burbujas ya formadas. Es más, la mayoría de los animales de los que se recuperaron registros alcanzaron su profundidad máxima de buceo entre los días 15 y 20 post-liberación. Sin embargo, sí podría ser un aspecto a considerar, que los días antes de morir los animales parecían mostrar perfiles de buceo más superficial, pero esta información en cualquier caso es muy preliminar. Hemos de considerar además que estos datos podrían estar sesgados y debemos ser cautos con la interpretación, ya que la profundidad en la zona de arrastre en Brasil concretamente no era demasiada (en torno a los 25m) y las tortugas deberían tener que desplazarse muchas millas del punto de suelta para lograr alcanzar profundidades más importantes que permitiesen una recompresión más efectiva. En el caso de Italia sí hubo tortugas que alcanzaron profundidades importantes por encima de los 90m incluso al día siguiente de su liberación. Con el fin de poder avanzar en el conocimiento de esta hipótesis, estamos planificando estudios a futuro donde poder evaluar mediante unos emisores específicos, el perfil de buceo de tortugas con EG durante los primeros días y comparar su comportamiento con tortugas sanas para ver si de algún modo, los animales afectados practican algún patrón que pudiera asociarse a intentos de recompresión-descompresión voluntaria. Los resultados de este nuevo trabajo esperamos nos permitan mejorar las recomendaciones de manejo y tratamiento inmediato a bordo de las capturas accidentales en redes de pesca de arrastre y otras artes.

Destacar que en base a la estadística realizada con los animales estudiados a bordo y a diferencia de lo que se podría prever en base al conocimiento de la enfermedad en humana o lo que se deriva del tratamiento de los datos generados en nuestro CR, ni el tiempo trascurrido en superficie (en cubierta), ni la temperatura del agua, ni la profundidad de calado, ni la duración del arrastre, ni el tamaño de la tortuga (LCC) mostraron asociación estadística con la mortalidad. El examen neurológico y la aspiración

de agua sí que fueron factores que se asociaron tanto a la mortalidad como a la gravedad del embolismo y para esta última variable, el tiempo de arrastre también mostró significatividad. Una vez más debemos interpretar estos resultados con cautela y tener en cuenta que el tamaño muestral para este grupo fue muy limitado contando únicamente con 62 individuos. A medida que podamos ir evaluando y marcando más animales en estudios de supervivencia post-interacción, podremos obtener conclusiones con una mayor robustez.

Otra de las dificultades con la que nos encontramos en este proyecto a bordo de los pesqueros, fue con la adecuada colocación y funcionamiento de las marcas para evitar que se desprendiesen demasiado rápido, evitar el consumir demasiado tiempo en superficie, no afectar la logística del barco, o minimizar la interferencia de las marcas con el ciclo de vida de los animales. Sin embargo, el problema vino por las propias marcas, las cuales 1 de cada 3 en la campaña de Italia no funcionó correctamente, limitando la capacidad y el alcance del muestreo previsto. Los posibles motivos esgrimidos por el fabricante (Wildlife Computers), incluyeron: 1) Depredación y daño a la marca; 2) *Biofouling* pesado, evitando que la marca llegase a superficie y/o transmitiese; 3) Animal fue recapturado y la marca destruida por los pescadores; 4) Marca de alguna manera impedida en su ascenso a superficie (por ejemplo, atrapada bajo algas, rocas, redes, etc) lo que imposibilitó que transmitiera los datos.

En base al conocimiento previo, es fundamental también considerar que podría existir mortalidad adicional más allá de los 30 días como consecuencia de los efectos del embolismo a medio y largo plazo. Estos casos no fueron evaluables y merecerían un mayor esfuerzo para su estudio mediante marcaje satelital a más largo plazo. De hecho, están descritos otros riesgos/ afecciones potenciales para la salud asociadas al desarrollo de EG que pueden provocar una mortalidad a largo plazo (Francis and Mitchell, 2003; Jepson et al., 2005). Tal y como describimos en el Capítulo 2, nosotros mismos hemos podido evidenciar secuelas en los animales afectados (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017). Aunque se hace necesario continuar con estudios a más largo plazo en casos de EG, lo cierto es que se hace logísticamente muy difícil la determinación con exactitud de las tasas asociadas de mortalidad post-liberación, especialmente más allá de los 90 días, debido a la interferencia de numerosos factores ambientales que podrían influir en el riesgo de muerte (Chaloupka et al., 2004). Incluso se podría llegar a considerar que las lesiones y daños asociados a la DCS podrían llegar a favorecer nuevas interacciones con artes de pesca en zonas de alta captura accidental o que se fuesen agravando las consecuencias asociadas a la enfermedad en caso de interacciones sucesivas (daños acumulativos) (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; Parga et al., 2017) en zonas donde hay mucha densidad de buques pesqueros como es el caso en algunos puntos del Mediterráneo (Casale, 2011).

Nuestras observaciones también ponen de manifiesto la eficacia de los centros de recuperación en la estabilización y el tratamiento de las tortugas con patologías asociadas a la inmersión prolongada en general y la DCS en particular, consiguiendo en nuestro caso tasas de recuperación y reintroducción por encima del 95% a nivel global y del 91,23% para los animales afectados de embolismo que llegan vivos al centro (94,15% en arrastre y 80% en trasmallo). Los datos preliminares (aún pendientes de publicación) de un grupo de trabajo italiano de la Universidad de Bari que también ha empezado a trabajar sobre esta enfermedad en tortugas marinas (procedentes exclusivamente de redes de arrastre) y llevadas también a un CR, apuntan a una tasa de mortalidad global del 20% reduciéndose al 10% si se consideran únicamente a los animales que llegan vivos al centro afectados con EG (Franchini et al., 2021)(en revisión). Sin embargo, los autores en este caso comentan que no aplicaron ningún tratamiento específico a los animales más allá de su mantenimiento en seco o con muy bajo nivel de agua, en una habitación templada y silenciosa. Comparativamente, la mortalidad que nosotros obtuvimos para el grupo de animales afectados por descompresión procedente del arrastre que pudieron ser tratados fue de un 5,85%, algo más de la mitad que la mortalidad que registraron los compañeros de Italia para el mismo grupo (asumiendo condiciones similares). Esto podría deberse a que en nuestro caso sí se estableció en todos los casos en los que fue posible un tratamiento hiperbárico o en su defecto, oxígeno normobárico. Destacar además que las liberaciones en nuestro caso para los animales afectados por EG nunca se realizaron antes de las 4 semanas (y generalmente tuvieron lugar a partir de la 6-8 semana), mientras que en el estudio de Italia los animales se liberaron entre los días 1 y 13 posteriores al ingreso. Esto, en nuestra experiencia, podría implicar que algunos animales que aparentemente se podrían haber recuperado del insulto inicial en el CR italiano podrían morir a los pocos días tras su reintroducción. La ausencia de soporte con oxigenoterapia (idealmente hiperbárica) que permita agilizar la re-oxigenación y la eliminación del nitrógeno absorbido, también podría redundar en un mayor riesgo de padecimiento de secuelas en los supervivientes tal y como también demostramos en nuestro trabajo.

Sólo en lo que se refiere a tortugas pescadas accidentalmente, en estos 10 años se han podido recuperar y devolver al mar 356 tortugas en nuestro centro. Asimismo, a la vista de esta nueva enfermedad, la atención a bordo de las tortugas capturadas accidentalmente por artes de pesca requiere de un mayor estudio en profundidad con el fin de poder maximizar la supervivencia post-liberación. Hemos detectado y documentado varios efectos conocidos de la inmersión forzada, incluyendo el riesgo asociado de neumonía por aspiración de agua de mar, especialmente frecuente en capturas por trasmallo y en los casos de arrastre de larga duración donde se alcanzó una mayor temperatura del agua (Brasil). Los animales que padecen aspiración podrían beneficiarse de mantenerse en cubierta tras la captura tratando de facilitar la expulsión de agua de las vías

respiratorias hasta su recuperación antes de ser devueltos al mar, tal y como se recomienda en diversos manuales de prácticas de manejo y recomendaciones de "reanimación" de tortugas marinas capturadas accidentalmente (p. ej. NOAA *Technical Memorandum* NMFS-SEFSC-524 (Epperly et al., 2004; Gerosa and Aureggi, 2005; Gilman et al., 2009; Gilman et al., 2007; Parga et al., 2017). Sin embargo, en nuestra experiencia la gran mayoría de estos casos terminan muriendo a pesar de la aparente recuperación inicial en cubierta, siendo la aspiración de agua marina uno de los mejores predictores de mortalidad en todos los casos.

Nuestro trabajo también ha servido para evidenciar la alta frecuencia de EG potencialmente asociada a una mortalidad que hasta ahora había pasado desapercibida. Los efectos de la captura de tortugas marinas son complejos y tienen implicaciones clínicamente relevantes que no son fáciles de resolver en condiciones de trabajo de un buque pesquero.

El presente capítulo también incluye la descripción por primera vez del EG post descompresión en tres nuevas especies de tortugas marinas, la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*), la tortuga verde (*Chelonia mydas*) y la tortuga olivácea o golfina (*Lepidochelys olivacea*) tras su interacción con aparejos de pesca. A pesar de contar con un solo representante de cada una de estas 3 nuevas especies, y no habiendo tenido acceso a más ejemplares de estas especies procedentes de pesquerías, estos hallazgos suponen una evidencia de que todas las especies de tortugas (las 7 que existen), podrían llegar a ser susceptibles de sufrir EG, especialmente cuando son sometidas a inmersión forzada en profundidad por períodos prolongados de tiempo. En su adaptación al buceo, las diferentes especies de tortugas marinas han desarrollado diferentes mecanismos anatómicos, fisiológicos y de comportamiento en distinto grado (Garcia-Parraga et al., 2017; Sapsford, 1978). Aunque la mayoría del trabajo hasta ahora se ha basado en la tortuga boba, como especie más común en el Mediterráneo occidental, en base a estos últimos hallazgos no podemos excluir a todas las demás especies de tortugas marinas de ser potencialmente susceptibles de sufrir descompresión en caso de captura accidental en profundidad.

Entendemos que debido a que la EG ocasionaría una mortalidad retardada, se puede estar subestimando la mortalidad real en tortugas marinas asociada con las pesquerías a nivel mundial. Si verdaderamente esta enfermedad se confirmase a escala global en unos niveles de incidencia comparables a los de nuestros estudios en Brasil o en el Mediterráneo y pudiese afectar a las diferentes especies de tortugas que componen este taxón (todas ellas sometidas a algún grado de amenaza o necesidad de protección según la lista roja de la IUCN), la mortalidad real en tortugas marinas asociada con la pesca accidental podría llegar a ser mucho mayor de lo previsto inicialmente en las estimaciones globales (Clusa et al., 2016; Lewison et al., 2004a; Lewison et al., 2004b; Wallace et al., 2013).

La tortuga laúd es la especie de tortuga marina mejor adaptada al buceo profundo, y por lo tanto en principio debería ser la especie con mayor capacidad para hacer frente a los efectos derivados de la recompresión-descompresión tras el buceo (Davenport et al., 2009; Fossette et al., 2010; Murphy et al., 2012). Sin embargo, en el presente trabajo aportamos evidencias de que esta especie también se ve afectada por EG cuando se somete a inmersión forzada (Crespo-Picazo et al., 2020), y en el caso que describimos esto sucedió cuando este individuo fue capturado a relativamente poca profundidad (37 m), muy inferior a la profundidad media de buceo para esta especie (Robinson and Paladino, 2015). Si la tortuga laúd, una especie que ha sido registrada en buceos a profundidades superiores a los 1200 m (Houghton et al., 2008), se puede ver afectada por EG cuando es retenida a profundidades tan moderadas como los 30-40m, se podría llegar a plantear que, dadas unas condiciones mínimas de tiempo y profundidad, todas las especies de tortugas marinas con menor capacidad de buceo podrían ser susceptibles de sufrir EG en mayor o menor grado. Al menos en esta línea van las evidencias aportadas. La alteración de los mecanismos fisiológicos para minimizar la absorción de nitrógeno durante las inmersiones y muy especialmente la reversión de la bradicardia de buceo y del *shunt* intracardiaco por relajación de los esfínteres pulmonares, se considera la principal explicación fisiopatológica que conduciría al EG tal y como describimos también en nuestro grupo en trabajos previos (García-Párraga et al., 2018a)

Recientemente también he participado en un trabajo en el que se pone de manifiesto la susceptibilidad al embolismo en una quinta especie de tortuga marina, la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*), en este caso asociado a un fenómeno descompresivo no relacionado con la pesca sino con el uso de dragas en puertos (Harms et al., 2020). Tras esta nueva descripción, serían 5 especies de tortugas las que se han confirmado afectadas por el EG. Sin embargo, sólo las tortugas bobas y la olivácea se ha podido evidenciar que lleguen a tener síntomas y lesiones compatibles con DCS. Estos síntomas y lesiones post mortem fueron idénticos en las dos especies (García-Párraga and Crespo-Picazo, 2019; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2017), lo que proporciona más apoyo a que EG y potencial DCS podrían ser una amenaza real y generalizada a todas las tortugas marinas (7 especies en total) ya que todas ellas interaccionan con pesca y comparten aspectos anatómicos y fisiológicos fundamentales en su adaptación al buceo. Por tanto, aún sería necesario continuar las investigaciones para confirmar si es posible que se produzca y en su caso, cuáles son los factores de riesgo asociados para el desarrollo DCS y posible muerte en todas las demás especies. No sería descartable que algunas especies pudieran ser capaces de gestionar mejor que otras con cierto nivel de EG y, por lo tanto, inhibir la aparición de manifestaciones patológicas que llevarían a la enfermedad (comportándose como asintomáticos). Identificar más casos a lo largo del tiempo en diferentes especies y bajo diferentes condiciones ambientales y de pesca podrá contribuir a aclarar las implicaciones clínicas y la susceptibilidad a la

enfermedad en las diferentes especies de tortugas marinas. Además, la realización de nuevos estudios debería también poder determinar el papel del posible embolismo recurrente (en animales pescados en múltiples ocasiones), así como los efectos nocivos acumulativos asociados a otros trastornos metabólicos observados que son concurrentes en los procesos de captura accidental (Harms et al., 2003; Innis et al., 2010; Innis et al., 2014; Phillips et al., 2015).

Muy probablemente ninguna de las especies de tortugas marinas esté verdaderamente protegida frente a la DCS. Sería importante seguir avanzando en este campo y muy especialmente en el caso de las tortugas carey (*Eretmochelys imbricata*) y la tortuga plana (*Natator depressus*) que serían las dos únicas especies que a día de hoy quedarían por confirmar en cuanto a su susceptibilidad a la descompresión. En realidad, más allá de las especies, se debería tratar de descartar esta condición en cualquier tortuga sometida a una inmersión forzada o atrapada en cualquier otro tipo de arte de pesca. Recientemente un caso de DCS ha sido reportado también en una nueva pesquería: una tortuga accidentalmente quedó atrapada a media agua en una red de cerco (Crespo-Picazo com. pers.) y también reveló signos compatibles con EG en las pruebas de imagen.

Aunque el presente trabajo aporta nueva información muy relevante, aun no se han estudiado detalladamente todas las implicaciones y los posibles valores umbral que podrían tener en el desencadenamiento de la enfermedad muchos otros factores ambientales tales como la velocidad del arrastre, la temperatura del aire, la velocidad de subida de los aparejos de pesca, o incluso otros factores individuales (condición corporal, estado de salud, inmersiones anteriores, actividad reproductiva, etc.). Existen por tanto numerosas incógnitas en relación con esta nueva enfermedad, destacando la importancia de seguir recogiendo información sobre el impacto y los factores de riesgo asociados a la pesca en las diferentes poblaciones de tortugas marinas. Es fundamental poder conocer las verdaderas tasas de mortalidad asociada a las diferentes pesquerías, con el fin de establecer las políticas necesarias para su mitigación (Putman et al., 2020). El EG asociado con la pesca de arrastre lo diagnosticamos por primera vez en tortugas marinas en 2014 (García-Párraga et al., 2014) y aún hoy se sabe muy poco acerca de su incidencia en las tortugas capturadas por los diferentes tipos de pesquerías en todo el mundo, su progresión durante las primeras horas después de la captura, y sus consiguientes efectos retardados y mortalidad aguda asociada. Los estudios de campo son muy caros y complejos, pero es imperativo poder continuar con más trabajos de investigación para determinar cómo los parámetros operativos de pesca y las condiciones ambientales afectan a la aparición y gravedad de EG en las tortugas marinas. Ésta es la única vía para poder desarrollar recomendaciones con el fin de reducir la mortalidad relacionada con el DCS a escala global, acotando los tiempos de arrastre en función de la profundidad, establecimiento de vedas espacio temporales en épocas de mayor riesgo de interacción o exigiendo la implantación de dispositivos para la reducción de las

capturas accidentales (BRDs por sus siglas en inglés, incluyendo los TEDs) entre otros (Alessandro and Antonello, 2010; Casale, 2011; Casale et al., 2018; Crowder et al., 1994; Gerosa and Casale, 1999; Lewison et al., 2004a; Lucchetti et al., 2019; Wallace et al., 2013). A partir de ahora ésta debe ser una enfermedad a tener muy en cuenta en la lista de diagnósticos diferenciales para cualquier tortuga marina que se vea sometida a una inmersión forzada.

V- CONCLUSIONES

En el presente capítulo se evidencia que el EG en tortugas marinas no supone una enfermedad esporádica, sino que presenta una elevada incidencia en tortugas capturadas accidentalmente por diferentes pesquerías. A nivel global la incidencia en pesquerías de la Comunidad Valenciana alcanzaría casi el 60% de los casos evaluados de forma tardía a su llegada al CR y el 100% de los casos examinados a bordo de buques pesqueros en arrastreros de Brasil e Italia. La tasa de mortalidad a nivel global de todas las capturas en nuestra región se aproximó al 20%, siendo esta tres veces superior para el trasmallo (>30%) que para el arrastre (10%). La tasa de mortalidad en animales afectados de EG que llegan al CR se situó cerca del 30% frente a una mortalidad del 3-4% en los animales capturados que no se vieron afectados. Con el tratamiento específico, la tasa de supervivencia en los afectados con embolismo que ingresaron vivos fue superior al 90% (94% para casos de arrastre y 80% en casos de trasmallo). La mortalidad confirmada en condiciones de campo a bordo de barcos arrastreros superó el 40% pudiendo llegar a alcanzar más del 60% ya que solo se pudo confirmar a nivel global un 37% de supervivencia por encima de los 30 días. La profundidad de calado, el tipo de pesquería, el tamaño de la tortuga y la presencia de aspiración de agua se vieron asociados con el grado de embolismo detectado en los animales que llegaban al CR, siendo la presencia de aspiración, la severidad del embolismo, el tipo de pesquería, la temperatura del agua, la profundidad y la duración de calado factores asociados a la mortalidad. En el caso de los estudios a bordo la presencia de aspiración de agua y el nivel de consciencia en el examen neurológico fueron los únicos factores que se asociaron de forma significativa con la mortalidad. Estos mismos factores y la duración del arrastre fueron los que se asociaron a la gravedad del embolismo. Aunque el tiempo transcurrido en superficie no se pudo asociar directamente con la supervivencia post-liberación, esta sí fue mayor en el grupo de los animales con los tiempos más cortos de manejo a bordo (menos de 1h) y en las evaluaciones ecográficas consecutivas, la cantidad de gas acumulado en los vasos y tejidos fue cada vez mayor. Así, en caso de no poder optar a un CR, se sugiere la devolución al mar de los animales tan pronto se encuentren conscientes, activos y en condiciones de nadar y bucear, con el fin de tratar de incrementar su

supervivencia.

El presente trabajo también aporta evidencias de que al menos 4 especies de tortugas, incluyendo la tortuga laúd que en principio es la especie mejor adaptada para el buceo, son susceptibles de sufrir EG como consecuencia de la interacción con pesca. Además, se aportan pruebas de que la mencionada patología no se restringe a las pesquerías o condiciones ambientales de la región de la Comunidad Valenciana, sino que se da de forma consistente en todos los casos de interacción evaluados, en pesquerías de arrastre de Brasil y de Italia, apuntando a un problema global a escala mundial.

VI – BIBLIOGRAFÍA

Alessandro, L., and S. Antonello. 2010. An overview of loggerhead sea turtle (Caretta caretta) bycatch and technical mitigation measures in the Mediterranean Sea. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20:141-161.

Barratt, D.M., P.G. Harch, and K. Van Meter. 2002. Decompression illness in divers: a review of the literature. *The Neurologist* 8:186-202.

Bentivegna, F., S. Hochscheid, and C. Minucci. 2003. Seasonal variability in voluntary dive duration of the Mediterranean loggerhead turtle, Caretta caretta. *Scientia Marina* 67:371-375.

Berghage, T.E., T.D. David, and C.V. Dyson. 1979. Species differences in decompression. *Undersea Biomedical Research* 6:1-13.

Casale, P. 2011. Sea turtle by-catch in the Mediterranean. *Fish and Fisheries* 12:299-316.

Casale, P., G. Abbate, D. Freggi, N. Conte, M. Oliverio, and R. Argano. 2008. Foraging ecology of loggerhead sea turtles Caretta caretta in the central Mediterranean Sea: evidence for a relaxed life history model. *Marine Ecology Progress Series* 372:265-276.

Casale, P., A.C. Broderick, J.A. Camiñas, L. Cardona, C. Carreras, A. Demetropoulos, W.J. Fuller, B.J. Godley, S. Hochscheid, and Y. Kaska. 2018. Mediterranean sea turtles: current knowledge and priorities for conservation and research. *Endangered species research* 36:229-267.

Chaloupka, M., D. Parker, and G. Balazs. 2004. Modelling post-release mortality of loggerhead sea turtles exposed to the Hawaii-based pelagic longline fishery. *Marine Ecology Progress Series* 280:285-293.

Chrisman, C.L., M. Walsh, J.C. Meeks, H. Zurawka, R. LaRock, L. Herbst, and J. Schumacher. 1997. Neurologic examination of sea turtles. *Journal-American Veterinary Medical Association* 211:1043-1047.

Clusa, M., C. Carreras, M. Pascual, S.J. Gaughran, S. Piovano, D. Avolio, G. Ollano, G. Fernández, J. Tomás, and J.A. Raga. 2016. Potential bycatch impact on distinct sea turtle populations is dependent on fishing ground rather than gear type in the Mediterranean Sea. *Marine Biology* 163:122.

Crespo-Picazo, J.L., M. Parga, Y. Bernaldo de Quirós, D. Monteiro, V. Marco-Cabedo, C. Llopis-Belenguer, and D. García-Párraga. 2020. Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species. *Frontiers in Marine Science* 7:

Crowder, L.B., D.T. Crouse, S.S. Heppell, and T.H. Martin. 1994. Predicting the impact of turtle excluder devices on loggerhead sea turtle populations. *Ecological applications* 4:437-445.

D'Agostino, R., and E.S. Pearson. 1973. Tests for departure from normality. Empirical results for the distributions of b 2 and√ b. *Biometrika* 60:613-622.

D'Agostino, R.B. 1971. An omnibus test of normality for moderate and large size samples. *Biometrika* 58:341-348.

Davenport, J., J. Fraher, E. Fitzgerald, P. McLaughlin, T. Doyle, L. Harman, T. Cuffe, and P. Dockery. 2009. Ontogenetic changes in tracheal structure facilitate deep dives and cold water foraging in adult leatherback sea turtles. *Journal of Experimental Biology* 212:3440-3447.

Dodge, Y. 2008. Spearman rank correlation coefficient. *The Concise Encyclopedia of Statistics. Springer, New York* 502-505.

Epperly, S., L. Stokes, and S. Dick. 2004. Careful release protocols for sea turtle release with minimal injury. In US Department of Commerce, NOAA fisheries, Miami, Florida, USA. 42.

Fahlman, A. 2017. Allometric scaling of decompression sickness risk in terrestrial mammals; cardiac output explains risk of decompression sickness. *Scientific Reports* 7:1-9.

Fahlman, A., J.L. Crespo-Picazo, B. Sterba-Boatwright, B.A. Stacy, and D. Garcia-Parraga. 2017. Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in trawls and gillnets. *Scientific reports* 7:1-7.

Fossette, S., A.C. Gleiss, A.E. Myers, S. Garner, N. Liebsch, N.M. Whitney, G.C. Hays, R.P. Wilson, and M.E. Lutcavage. 2010. Behaviour and buoyancy regulation in the deepest-diving reptile: the leatherback turtle. *Journal of Experimental Biology* 213:4074-4083.

Franchini, D., C. Valastro, S. Ciccarelli, P. Trerotoli, S. Paci, F. Caprio, A. Lucchetti, and A. Di Bello. 2021. Gas Embolism Assessment in Sea Turtles: Predictors of Mortality for the Deadliest Pathology related to Trawling. *Pre-Print*

Francis, T.J.R., and S.J. Mitchell. 2003. Manifestations of decompression disorders. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 578-599.

Francis, T.J.R., and J.M. Simon. 2003. Pathology of Decompression Sickness. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 530-556.

García-Párraga, D., and J.L. Crespo-Picazo. 2019. Decompression Medicine in Aquatic Species (Fish and Sea Turtle Focus). In Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9. Elsevier, 345-355.

García-Párraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y. Bernaldo de Quirós, V. Cervera, L. Martí-Bonmati, J. Díaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernández. 2014. Decompression Sickness ("the bends") in Sea Turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 111:191-205.

García-Párraga, D., T. Lorenzo, T. Wang, J.-L. Ortiz, J. Ortega, J.-L. Crespo-Picazo, J. Cortijo, and A. Fahlman. 2018a. Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Journal of Experimental Biology* 221:jeb179820.

García-Párraga, D., M. Moore, and A. Fahlman. 2018b. Pulmonary ventilation– perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. *Proceedings Royal Society B* 285:20180482.

Garcia-Parraga, D., A.L.S. Valente, B.A. Stacy, and J. Wyneken. 2017. Cardiovascular System. In Sea Turtle Health and Rehabilitation. C.A. Manire, T.M. Norton, B.A. Stacy, C.A. Harms, and C.J. Innis, editors. 295-320.

Gerosa, G., and P. Casale. 1999. Interaction of marine turtles with fisheries in the Mediterranean. Mediterranean action plan. UNEP; Regional Activity Centre for Specially Protected Areas (RAC/SPA), Tunis, Tunisia.

Gilman, E., G. Bianchi, and C. Attwood. 2009. Guidelines to reduce sea turtle mortality in fishing operations. FAO,

Gilman, E., T. Mouth-Poulsen, and G. Bianchi. 2007. Review of measures taken by inter-governmental organizations to address problematic sea turtle and seabird interactions in marine capture fisheries. In F.a.a.o.o.t.U. Nations, editor FAO Fisheries Circular, Rome, Italy.

Harms, C.A., S.M. Boylan, B.A. Stacy, J.F. Beasley, D. García-Párraga, and M.H. Godfrey. 2020. Gas embolism and massive blunt force trauma to sea turtles entrained in hopper dredges in North and South Carolina, USA. *Diseases of Aquatic Organisms* 142:189-196.

Harms, C.A., K.M. Mallo, P.M. Ross, and A. Segars. 2003. Venous blood gases and lactates of wild loggerhead sea turtles (Caretta caretta) following two capture techniques. *Journal of Wildlife Diseases* 39:366-374.

Houghton, J.D.R., T.K. Doyle, J. Davenport, R.P. Wilson, and G.C. Hays. 2008. The role of infrequent and extraordinary deep dives in leatherback turtles (Dermochelys coriacea). *Journal of Experimental Biology* 211:2566-2575.

Huberty, C.J. 2005. Discriminant analysis. *Encyclopedia of statistics in behavioral science*

Innis, C., C. Merigo, K. Dodge, M. Tlusty, M. Dodge, B. Sharp, A. Myers, A. McIntosh, D. Wunn, and C. Perkins. 2010. Health evaluation of leatherback turtles (Dermochelys coriacea) in the northwestern Atlantic during direct capture and fisheries gear disentanglement. *Chelonian Conservation and Biology* 9:205-222.

Innis, C.J., C. Merigo, J.M. Cavin, K. Hunt, K.L. Dodge, and M. Lutcavage. 2014. Serial assessment of the physiological status of leatherback turtles (Dermochelys coriacea) during direct capture events in the northwestern Atlantic Ocean: comparison of post-capture and pre-release data. *Conservation physiology* 2:

James, P.B., and K. Jain. 2017. Decompression sickness. In Textbook of Hyperbaric Medicine. Springer, 101-120.

Jepson, P.D., R. Deaville, I.A.P. Patterson, A.M. Pocknell, H.M. Ross, J.R. Baker, F.E. Howie, R.J. Reid, A. Colloff, and A.A. Cunningham. 2005. Acute and chronic gas bubble lesions in cetaceans stranded in the United Kingdom. *Veterinary Pathology* 42:291-305.

Kruskal, W.H., and W.A. Wallis. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association* 47:583-621.

Lewison, R., B. Wallace, J. Alfaro-Shigueto, J. Mangel, S. Maxwell, and E. Hazen. 2013. Fisheries bycatch of marine turtles: lessons learned from decades of research and conservation. *The biology of sea turtles* 3:329-351.

Lewison, R.L., L.B. Crowder, A.J. Read, and S.A. Freeman. 2004a. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. *Trends in Ecology & Evolution* 19:598-604.

Lewison, R.L., S.A. Freeman, and L.B. Crowder. 2004b. Quantifying the effects of fisheries on threatened species: the impact of pelagic longlines on loggerhead and leatherback sea turtles. *Ecology Letters* 7:221-231.

Lillo, R.S., J.F. Himm, P.K. Weathersby, D.J. Temple, K.A. Gault, and D.M. Dromsky. 2002. Using animal data to improve prediction of human decompression risk following air-saturation dives. *Journal of Applied Physiology* 93:216-226.

Limpus, C.J., and D.G. Walter. 1980. The growth of immature green turtles (Chelonia mydas) under natural conditions. *Herpetologica* 162-165.

Lucchetti, A., G. Bargione, A. Petetta, C. Vasapollo, and M. Virgili. 2019. Reducing sea turtle bycatch in the Mediterranean mixed demersal fisheries. *Frontiers in Marine Science* 6:387.

Lutz, P.L., A. Bergey, and M. Bergey. 1989. Effects of Temperature on Gas Exchange and Acid-Base Balance in the Sea Turtle Caretta Caretta at Rest and During Routine Activity. *Journal of Experimental Biology* 144:155-169.

Mahon, R.T., and D.P. Regis. 2014. Decompression and decompression sickness. *Comprehensive Physiology* 4:1157-1175.

Mann, H.B., and D.R. Whitney. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics* 50-60.

Maxwell, S.M., M.J. Witt, G. Abitsi, M.P. Aboro, P.D. Agamboue, G.M. Asseko, F. Boussamba, E. Chartrain, M.S. Gnandji, and B.D.K. Mabert. 2018. Sea turtles and survivability in demersal trawl fisheries: Do comatose olive ridley sea turtles survive post-release? *Animal biotelemetry* 6:1-8.

Monteiro, D., S. Estima, and E. Secchi. 2013. Captura incidental de tartarugas marinhas na pescaria de arrasto de parelha no litoral do Rio Grande do Sul–Brasil. *VI Jornada y VII Reunión de Conservación e Investigación de Tortugas Marinas en el Atlántico Sur Occidental (ASO)*

Murphy, C., D. Kelliher, and J. Davenport. 2012. Shape and material characteristics of the trachea in the leatherback sea turtle promote progressive collapse and reinflation during dives. *Journal of Experimental Biology* 215:3064-3071.

Nemenyi, P. 1963. Distribution-free mulitple comparisons PhD thesis Princeton University Princeton. In NJ.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Garcia-Parraga, B. Stacy, and C. Harms. 2017. Fisheries and sea turtles. In Sea Turtle Health and Rehabilitation C. Manire, TM Norton, BA Stacy, CJ Innis & CA Harms editor J Ross Publishing, Plantation, FL, USA. 859-897.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Monteiro, D. García-Párraga, J. Hernandez, Y. Swimmer, S. Paz, and N. Stacy. 2020. On-board study of gas embolism in marine turtles caught in bottom trawl fisheries in the Atlantic Ocean. *Scientific Reports* 10:1-9.

Pearson, K. 1900. X. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 50:157-175.

Phillips, B.E., S.A. Cannizzo, M.H. Godfrey, B.A. Stacy, and C.A. Harms. 2015. Exertional myopathy in a juvenile green sea turtle (Chelonia mydas) entangled in a large mesh gillnet. *Case Reports in Veterinary Medicine* 2015:

Polovina, J.J., G.H. Balazs, E.A. Howell, D.M. Parker, M.P. Seki, and P.H. Dutton. 2004. Forage and migration habitat of loggerhead (*Caretta caretta*) and olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) sea turtles in the central North Pacific Ocean. *Fisheries Oceanography* 13:36-51.

Portugues, C., J.L. Crespo-Picazo, D. García-Párraga, J. Altimiras, T. Lorenzo, A. Borque-Espinosa, and A. Fahlman. 2018. Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Conservation physiology* 6:cox074.

Putman, N.F., J. Hawkins, and B.J. Gallaway. 2020. Managing fisheries in a world with more sea turtles. *Proceedings of the Royal Society B* 287:20200220.

Robinson, N.J., and F.V. Paladino. 2015. Diving Behavior and Physiology of the Leatherback Turtle. *The Leatherback Turtle* 21-31.

Robinson, N.J., K.R. Stewart, P.H. Dutton, R. Nel, F.V. Paladino, and P.S. Tomillo. 2017. Standardising curved carapace length measurements for leatherback turtles, Dermochelys coriacea, to investigate global patterns in body size. *Herpetological Journal* 27:

Robinson, W.R., R.H. Peters, and J. Zimmermann. 1983. The effects of body size and temperature on metabolic rate of organisms. *Canadian Journal of Zoology* 61:281-288.

Sapsford, C. 1978. Anatomical evidence for intracardiac blood shunting in marine turtles. *African Zoology* 13:57-62.

Sasso, C.R., and S.P. Epperly. 2006. Seasonal sea turtle mortality risk from forced submergence in bottom trawls. *Fisheries Research* 81:86-88.

Schipke, J.D., E. Gams, and O. Kallweit. 2006. Decompression sickness following breath-hold diving. *Research in sports medicine* 14:163-178.

Shapiro, S.S., and M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591-611.

Stewart, K., C. Johnson, and M.H. Godfrey. 2007. The minimum size of leatherbacks at reproductive maturity, with a review of sizes for nesting females from the Indian, Atlantic and Pacific Ocean basins. *The Herpetological Journal* 17:123-128.

Stokes, L., S.P. Epperly, L.I. Avens, L.C. Belskis, S.R. Benson, J. Braun-McNeill, P.H. Dutton, J. Flanagan, C.A. Harms, and B.M. Higgins. 2008. Sea turtle research techniques manual.

Valente, A., M. Parga, Y. Espada, S. Lavin, F. Alegre, I. Marco, and R. Cuenca. 2007. Ultrasonographic imaging of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Veterinary Record* 161:226-232.

Vann, R.D., F.K. Butler, S.J. Mitchell, and R.E. Moon. 2011. Decompression illness. *The Lancet* 377:153-164.

Wallace, B.P., C.Y. Kot, A.D. DiMatteo, T. Lee, L.B. Crowder, and R.L. Lewison. 2013. Impacts of fisheries bycatch on marine turtle populations worldwide: toward conservation and research priorities. *Ecosphere* 4:1-49.

Zug, G.R., R.V. Wilson, and C.H. Ernst. 1998. Lepidochelys olivacea. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles (CAAR)*



DISCUSIÓN GENERAL

VIII- DISCUSIÓN GENERAL

El presente trabajo de Tesis Doctoral versa sobre la descripción de una nueva enfermedad: la enfermedad descompresiva en tortugas marinas. El trabajo lo hemos estructurado en 3 grandes bloques que dan respuesta a 3 objetivos principales:

- La demostración de la existencia de la enfermedad.
- La aproximación clínica a los animales afectados (mediante el establecimiento de las claves para el diagnóstico y el tratamiento)
- La evaluación de su alcance y posible impacto a nivel poblacional.

El primer capítulo que responde al **primer objetivo** gira en torno a el descubrimiento y primera descripción de la enfermedad en las tortugas marinas donde tratamos de aportar pruebas convincentes sobre su existencia, así como indagar sobre los posibles mecanismos de su desencadenamiento. Las pruebas aportadas se fundamentan en los signos clínicos, la detección de gas intravascular mediante técnicas de imagen y necropsia, los análisis de composición del gas y la reversión de los síntomas y lesiones mediante la recompresión con tratamiento hiperbárico.

La DCS nunca antes había sido planteada como posible causa de enfermedad en vertebrados marinos buceadores hasta que se describió por primera vez en zifios varados en masa coincidiendo en el espacio y en el tiempo con unas maniobras militares que empleaban sonar activo de media frecuencia y alta intensidad, así como en algunos otros cetáceos varados en la costa del Reino Unido (Fernández et al., 2013; Fernandez et al., 2005; Jepson et al., 2003; Jepson et al., 2005). A lo largo de los últimos veinte años, ha habido un creciente número de evidencias científicas que demuestran que los mamíferos marinos pueden llegar a sufrir EG de forma aguda y crónica, incluyendo la descripción de burbujas de gas en los vasos y tejidos de animales capturados y muertos accidentalmente por atrapamiento en redes en profundidad y posteriormente recuperados en superficie (Bernaldo de Quirós et al., 2012; Bernaldo de Quirós et al., 2011; Bernaldo de Quirós et al., 2013b; Fernández et al., 2013; Fernandez et al., 2005; Jepson et al., 2003; Jepson et al., 2005; Moore et al., 2009; Moore and Early, 2004). En un estudio reciente de la composición del gas extraído de las burbujas detectadas en delfines capturados accidentalmente, los autores concluyeron que éstas tenían una gran riqueza en nitrógeno el cual procedía de un *gas-off* asociado a la sobresaturación tras la descompresión de los

tejidos (Bernaldo de Quirós et al., 2013b). Estos hallazgos proporcionaron nuevas evidencias de que la acumulación de nitrógeno en los tejidos de las especies buceadoras apneístas se puede llegar a producir a pesar de las adaptaciones anatómicas, fisiológicas y comportamentales que han ido adoptando durante su evolución. Sin embargo, todos los ejemplos de mamíferos marinos con EG ya habían muerto cuando se confirmó la patología y por tanto no se podía llegar a un diagnóstico definitivo de DCS como entidad clínica, al no poder asociar una sintomatología concreta y una resolución de la misma bajo el tratamiento de recompresión. Las tortugas marinas, dada su relativa facilidad de manejo, tratamiento y transporte en comparación con los mamíferos marinos, nos ofrecieron una excelente oportunidad para el descubrimiento y estudio posterior de esta singular enfermedad. Su increíble capacidad de tolerancia a la hipoxia/anoxia y su resistencia a diferentes daños y desequilibrios (Berkson, 1966; Lutcavage and Lutz, 1997; Lutz and Bentley, 1985a; Southwood, 2013), muchos de los cuales acabarían rápidamente con la vida de cualquier mamífero, nos permitieron el acceso a animales aún vivos donde pudimos aplicar técnicas de diagnóstico y tratamiento llevando al primer diagnóstico definitivo de DCS en un vertebrado buceador (García-Párraga et al., 2014).

El descubrimiento de la enfermedad detallado en el primer capítulo de este trabajo demuestra por primera vez en el mundo y en contra de lo establecido hasta el momento, que las tortugas marinas capturadas accidentalmente son susceptibles a sufrir EG y llegar a morir como consecuencia de la DCS. El presente trabajo de Tesis Doctoral supone a día de hoy el recopilatorio más completo existente sobre la DCS en cualquier vertebrado buceador. El descubrimiento inicial junto con los estudios posteriores realizados en baño de órganos (García-Párraga et al., 2014; García-Párraga et al., 2018a), permitieron además conocer mejor la fisiología del buceo en las tortugas, y sirvieron de inspiración para utilizar a la tortuga marina como modelo fisiológico funcional a la hora de plantear una nueva hipótesis de buceo en mamíferos marinos mediante procesos de evolución convergente, trabajo que también publicamos recientemente y resumimos a continuación (García-Párraga et al., 2018b).

El conocimiento hasta el momento sobre las adaptaciones fisiológicas al buceo de las tortugas en base a los primeros estudios de fisiología del buceo de Berkson (1967) forzando la descompresión, establecía que estos animales no se podían llegar a descomprimir gracias a sus adaptaciones anatómicas, fisiológicas y de comportamiento desarrolladas a lo largo de miles de años de evolución. De algún modo se entendía que contaban con algún tipo de mecanismo protector que las hacía refractarias al padecimiento de la DCS. Nuestro trabajo proponiendo la existencia de la enfermedad por primera vez, cuestionaba por tanto las bases del conocimiento establecidas en fisiología del buceo hasta el momento en vertebrados buceadores en general y en tortugas marinas en particular. Los animales apneístas se daba por sentado que no se podían llegar a descomprimir a diferencia de lo que

sucede con los buzos humanos que respiran aire comprimido bajo el agua (Barratt et al., 2002; Berkson, 1966; Butler and Jones, 1997; Falke et al., 1985; Lutz and Bentley, 1985a; Ridgway and Howard, 1979; Ridgway et al., 1969; Scholander, 1940; Scholander, 1963). Tuvimos de hecho muchos problemas en el momento de la publicación de nuestro primer trabajo que fue rechazado en un gran número de revistas hasta su aceptación finalmente en la revista Diseases of Aquatic Organisms (García-Párraga et al., 2014). Los revisores cuestionaban el trabajo original en base a la ausencia de evidencias de enfermedad en muchos otros trabajos previos realizados con tortugas capturadas en otras muchas pesquerías por todo el mundo y nos instaban a aportar una explicación al posible proceso fisiopatológico que pudiese desencadenar la enfermedad en estos animales.

Los motivos por los que esta enfermedad no había sido diagnosticada antes por los múltiples grupos de investigación que trabajan desde hace muchos años con tortugas marinas capturadas accidentalmente continúan siendo una incógnita (Bezjian et al., 2014; Casale et al., 2004; Harms et al., 2003; Henwood and Stuntz, 1987; Snoddy et al., 2009; Work and Balazs, 2002; Work and Balazs, 2010). En cualquier caso, la estrecha colaboración con pescadores, el acceso a múltiples animales (vivos y muertos) en las primeras horas tras la captura, la disponibilidad de equipamiento de diagnóstico (especialmente equipos de imagen médica) y de un equipo veterinario especializado consideramos que fueron claves para llevar a cabo el descubrimiento.

Inicialmente lo desconocíamos todo sobre la enfermedad. Sólo podíamos evidenciar que algunas de las tortugas que nos llegaban cumplían con todos los requisitos de la propia definición de la DCS, incluyendo la desaparición de los síntomas en respuesta al tratamiento hiperbárico (Barratt et al., 2002; Berghage et al., 1974; Francis and Mitchell, 2003; Harvey, 1945; Vann et al., 2011).

La realidad es que aún hoy nos queda mucho por saber en cuanto a la fisiopatología del proceso, pero en estos años hemos podido avanzar sensiblemente en el conocimiento de los mecanismos que la desencadenan, en muchos casos extrapolables a los conocimientos en medicina humana y en otros vertebrados buceadores. En seres humanos, la relación causal entre el buceo en apnea y la DCS está siendo cada vez más aceptada debido al creciente número de casos de la DCS incluyendo la aparición de síntomas (Paulev, 1965; Schipke et al., 2006). En las tortugas, actualmente continuamos investigando sobre la hipótesis de trabajo que publicamos sobre el shunt pulmonar asociado al buceo (García-Párraga et al., 2018a; García-Párraga et al., 2018b) y que comentaremos a continuación.

A –FISIOPATOLOGÍA DEL PROCESO Y APORTACIONES DE ESTE TRABAJO AL CONOCIMIENTO DE LA FISIOLOGÍA DEL BUCEO EN VERTEBRADOS BUCEADORES

Las tortugas tienen 3 cámaras cardíacas con pared muscular contráctil, 2 atrios y 1 ventrículo, lo que permite la mezcla intraventricular del flujo sanguíneo pulmonar y sistémico (Garcia-Parraga et al., 2017; Hicks and Wang, 1996; Shelton and Burggren, 1976; Wang et al., 2001). Todas las tortugas marinas presentan adaptaciones vasculares asociadas a las maniobras de buceo, incluidos los esfínteres musculares dentro de las arterias pulmonares y una anastomosis entre la aorta izquierda y la derecha (Garcia-Parraga et al., 2017; White, 1976b; Wyneken et al., 2013b). Los *shunts* cardíacos en las tortugas marinas pueden conferir algunas ventajas en virtud de ciertas condiciones fisiológicas, tales como la mejora de la capacidad de buceo (Hicks and Wang, 1996), pero también podrían incrementar el riesgo de paso de burbujas de gas desde la circulación pulmonar a la circulación sistémica agravando las consecuencias de la enfermedad una vez se produce el embolismo (Germonpre et al., 1998; Harrah et al., 2008; Levett and Millar, 2008; Vann et al., 2011).

Existen diferentes estudios que correlacionan la tasa de ejercicio con la respiración, el flujo sanguíneo pulmonar y la frecuencia cardiaca en tortugas marinas (Butler et al., 1984; Okuyama et al., 2020; Southwood, 2013; West et al., 1992). La actividad muscular exacerbada que se asocia a los fenómenos de captura accidental conduce a la acumulación de ácido láctico incluso tras episodios muy breves de inmersión forzada (Lutz and Dunbar-Cooper, 1987; Stabenau et al., 1991; Stabenau and Vietti, 2003). Además, el ritmo cardíaco y el flujo sanguíneo pulmonar en las tortugas suelen aumentar inmediatamente durante el ascenso incluso antes del inicio de la respiración, lo cual sugeriría la presencia de mecanismos centrales de control sobre los centros que regulan la elevación del tono simpático. Este efecto también podría ser inducido por la liberación de catecolaminas durante la respuesta de lucha o huida que se produciría como resultado del enmallamiento del animal (Hicks and Wang, 1996; Shelton and Burggren, 1976; Wang and Hicks, 1996b; Wang et al., 2001; West et al., 1992; White and Ross, 1966).

Actualmente trabajamos en la hipótesis de que las tortugas sumergidas de forma forzada durante su atrapamiento en aparejos de pesca podrían llegar a desarrollar DCS como consecuencia de una mayor actividad en un intento de liberarse y de una inducción simpática con liberación de catecolaminas (García-Párraga et al., 2018a). Estos procesos alterarían la respuesta normal fisiológica protectora asociada al reflejo vagal de buceo que minimiza el flujo de sangre a través de los pulmones presurizados llenos de aire. Esta hipótesis se sustenta también en las observaciones realizadas por Berkson (Berkson, 1966; Berkson, 1967) con relación a las alteraciones detectadas en la respuesta de buceo en tortugas durante

sus experimentos sometiéndolas a inmersión forzada. Berkson reportó que las tortugas (completamente inmovilizadas mediante cinchas a un tablero para poder ser monitorizadas de forma invasiva durante el experimento), incrementaban su frecuencia cardiaca cada vez que se intentaban mover. Sin embargo, hemos de considerar que las tortugas en este experimento que trataba de medir su tolerancia a la descompresión, al estar inmovilizadas no podían ejercitarse como lo harían en un copo durante el arrastre o en una red de trasmallo, manteniendo presumiblemente un reducido gasto cardiaco. De ahí posiblemente que Berkson en sus experimentos de descompresión rápida tras una inmersión forzada a mayores presiones y mayor duración pero en condiciones de laboratorio (Berkson, 1967), no encontrase los niveles de embolismo que evidenciamos nosotros hoy más de 50 años después en los animales procedentes de pesquerías. Es más, a raíz de estos primeros experimentos de descompresión rápida tras buceos ficticios a profundidad y tiempos de inmersión extremos, sólo pudo evidenciar una mínima cantidad de burbujas intravasculares.

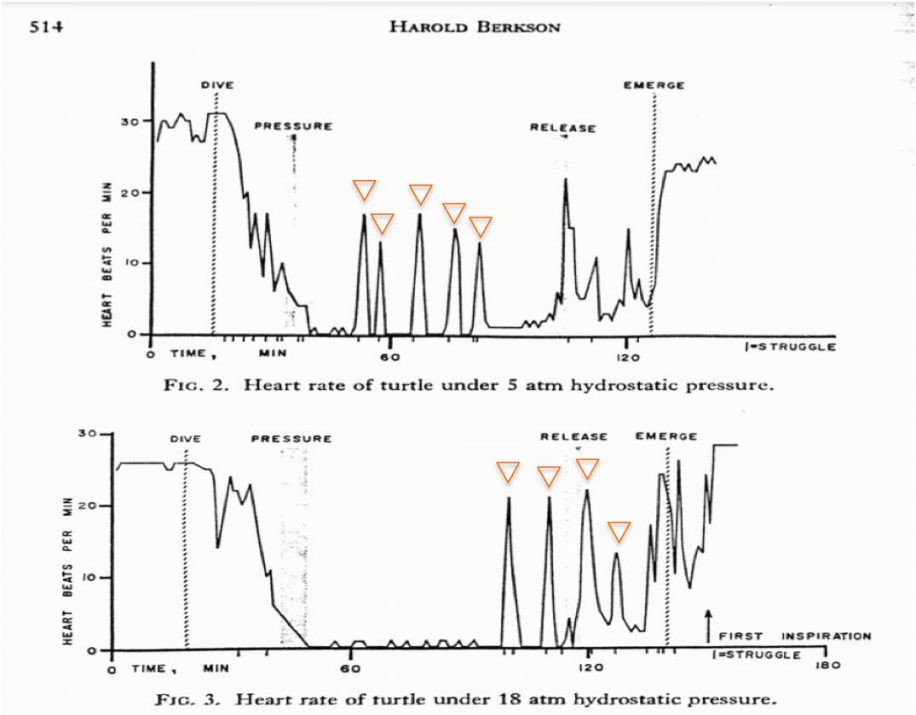


FIG. 2. Heart rate of turtle under 5 atm hydrostatic pressure.

FIG. 3. Heart rate of turtle under 18 atm hydrostatic pressure.

Figura 139: Gráficos mostrando la frecuencia cardiaca de algunas de las tortugas inmovilizadas sometidas a compresión descompresión a lo largo del tiempo durante uno de los experimentos de Berkson. Los picos de frecuencia que rompen la bradicardia de buceo (flechas) se corresponden con momentos en los que los animales forcejeaban intentando moverse. Fuente: (Berkson, 1967).

Berkson concluyó entonces que estos animales estaban de algún modo inherentemente protegidos frente a la descompresión y así se ha venido considerando durante todos estos años en el ámbito de la fisiología del buceo de las tortugas marinas (Lutcavage and Lutz, 1997; Lutz and Bentley, 1985a; Lutz and Bentley, 1985b; Ponganis et al., 2003).

La respuesta de buceo es un reflejo muy bien conservado que se da en todos los vertebrados, implicando un conjunto de cambios cardiovasculares originados por el aumento del tono parasimpático causando entre otros bradicardia y vasoconstricción periférica lo que resulta, entre otros, en un fenómeno redistributivo del flujo y en una reducción del gasto cardíaco (Berkson, 1967; Bert, 1870; Elsner et al., 1964; Lutz and Bentley, 1985a; Ponganis et al., 2003; Ridgway and Harrison, 1986; Scholander, 1963). Tradicionalmente se ha creído que estas respuestas cardiovasculares sirven para conservar el O_2 disponible para los órganos vitales, como el corazón y el cerebro, y que la disminución del flujo sanguíneo se asocia a una disminución en la funcionalidad de ciertos órganos, por ejemplo, el riñón, ayudando a reducir la tasa de consumo de O_2 en favor de los tejidos prioritarios (Lutz and Bentley, 1985a; Lutz and Bentley, 1985b; Scholander, 1940). La duración de las inmersiones en buceo aeróbico fisiológico en tortugas bobas va desde unos 7 min para animales pequeños (2-15 kg), hasta 27 min para los individuos más grandes (20 kg) (Lutz and Bentley, 1985b). Estas especies bucean exclusivamente en inspiración, y se ha sugerido que el pulmón actúa como una reserva importante de O_2 (Lutz and Bentley, 1985b). Sin embargo, el acceso a O_2 requiere que los faveolos permanezcan expandidos para permitir el intercambio de gas cuando el pulmón es perfundido. A medida que la presión hidrostática aumenta con la profundidad, los faveolos se llegan a colapsar provocando un baipás o *shunt* pulmonar pasivo funcional que minimiza el intercambio de gases (Berkson, 1967) similar al colapso alveolar en los mamíferos marinos. Por lo tanto, para poder acceder a las reservas de O_2 pulmonares, las inmersiones deben ser a profundidades menores que la profundidad de colapso pulmonar. Alternativamente, una nueva hipótesis planteada por nuestro grupo sugiere que la gestión de la relación de ventilación-perfusión a nivel pulmonar, podría suponer un mecanismo para intercambiar gases selectivamente que tuviesen diferente solubilidad (Fahlman et al., 2018; García-Párraga et al., 2018b) tal y como proponen los modelos de Farhi & Yokoyama y de West (Farhi and Yokoyama, 1967; West, 1962).

El ejercicio físico asociado a una elevación de la frecuencia cardiaca (Okuyama et al., 2020) sería uno de los aspectos clave en el desencadenamiento de la enfermedad. De hecho, el gasto cardiaco es uno de los parámetros críticos que parecen estar más vinculados con el riesgo de descompresión al menos en mamíferos (Fahlman, 2017) ya que básicamente de él depende entre otros el nivel de perfusión pulmonar y el intercambio de gases.

A la luz de nuestro descubrimiento, la capacidad de *shunt* pulmonar durante el buceo en reptiles no sólo podría representar entonces un mecanismo para regular el metabolismo a través de la modulación del suministro de O_2 a los tejidos (Wang and Hicks, 1996b; Wang et al., 1997; Wang et al., 2001). En base los hallazgos aquí presentados podría servir también para reducir la cantidad de nitrógeno solubilizado en sangre y por tanto el riesgo asociado de DCS (García-Párraga et al., 2018b), ya que

tenemos evidencias de que el riesgo de descompresión verdaderamente existe. Las tortugas y serpientes marinas tienen de hecho la mayor capacidad de *shunt* entre los reptiles (Lillywhite and Donald, 1989; White, 1976b; Wyneken, 2009). En caso de reversión, a mayor duración de la inmersión forzada y mayor profundidad, mayor cantidad de nitrógeno absorbido. Siendo buceadores apneístas, las tortugas capturadas accidentalmente no pueden eliminar con facilidad el exceso de nitrógeno absorbido respirando en profundidad ni durante el ascenso como lo haría un submarinista. Así cuando el animal asciende con el aparejo y se reduce la presión ambiental hasta salir a superficie, comienza a formar burbujas de gas (*gass-off*) por sobresaturación de los tejidos. También podemos especular que la retracción espástica de las extremidades que se observa en algunas tortugas afectadas y describimos en el segundo capítulo podría ser en parte comparable a la flexión de las extremidades que acontece en los seres humanos afectados por la DCS y de ahí su nombre en inglés "*the bends*". En nuestra experiencia en el CR, se requiere de varias horas o incluso días para resolver totalmente de forma espontánea el EG de tortugas afectadas incluso en un grado leve.

La diferente respuesta observada en los estudios complementarios que realizamos in vitro con tejidos procedentes de tortugas de agua dulce y tortugas marinas (García-Párraga et al., 2018a), indican que las tortugas han podido desarrollar a través de su evolución, un mecanismo de compensación diferente para minimizar los problemas asociados al buceo y exposición a un medio hiperbárico. Mediante la regulación temporal de la ratio ventilación-perfusión en el pulmón, pueden evitar la descompresión, manteniendo la capacidad de captar el O_2 pulmonar almacenado y equilibrar los niveles de CO_2 durante las inmersiones (Fahlman et al., 2018; García-Párraga et al., 2018a; García-Párraga et al., 2018b). El fallo de este mecanismo de intercambio selectivo de gases como consecuencia de la interacción de la pesca podría explicar la alta incidencia de EG durante procesos que implican inmersión forzada (Fahlman, 2017; García-Párraga et al., 2014).

En sus estudios, Berkson también propuso que el nivel de *shunt* pulmonar aumentaba con la profundidad, y el autor estimó que el colapso completo a nivel de los faveolos se producía a profundidades > 80 m (Berkson, 1967). En tortugas bobas, el 90% de su tiempo se encuentran en la superficie o en profundidades promedio de hasta 40 m de profundidad (Polovina et al., 2004). Así, la gran mayoría de las inmersiones en tortugas bobas son menos profundas que la profundidad requerida para alcanzar la compresión pasiva faveolar completa que impediría el intercambio de gases. Por lo tanto, y sin otro mecanismo alternativo, el nitrógeno retenido a nivel pulmonar iría difundiendo a la sangre y los tejidos de forma continua durante el buceo, aumentando el riesgo de EG incluso durante las inmersiones más habituales. Sin embargo, como hemos visto el sistema cardiovascular de las tortugas tiene la capacidad de generar un *shunt* intracardiaco (Hicks et al., 1996), provocando un shunt o baipás (*mismatch*) sangre/aire a nivel pulmonar que serviría para alterar el intercambio de gases

incluso estando el pulmón parcialmente expandido y ventilado (Farhi, 1967; Farhi and Yokoyama, 1967; West, 1962). La falta de septo interventricular completo en los quelonios proporciona la posibilidad del establecimiento de *shunts* intracardiacos y como hemos venido comentando, está bien establecido que el flujo sanguíneo pulmonar se reduce durante el buceo causando R-L *shunts*, mientras que, durante la respiración en superficie, aumenta el flujo pulmonar porque domina un *shunt* L-R (Burggren, 1977; Shelton and Burggren, 1976; Wang et al., 1997; Wang et al., 2001). Los cambios en el flujo sanguíneo pulmonar están mediados por la inervación parasimpática donde el aumento de la resistencia vascular pulmonar se eleva por aumento del tono vagal a través de la inervación del músculo liso en la pared de la arteria pulmonar (Burggren, 1977; Shelton and Burggren, 1976; Wang et al., 1997; Wang et al., 2001). Diversos estudios en algunos reptiles como galápagos de agua dulce o serpientes de cascabel apuntan a que el flujo sanguíneo pulmonar puede reducirse considerablemente, pudiendo llegar a cesar por completo por estimulación vagal (Milsom et al., 1977; Taylor et al., 2009; Wang, 2011; Wang et al., 2001). El desarrollo de un esfínter muscular bien conformado a nivel de las arterias pulmonares parece exclusivo de las tortugas marinas y permite la derivación pulmonar completa únicamente mediante la regulación del tono de la parte proximal y media de la arteria pulmonar.

Nuestra observaciones en trabajos previos de que los vasos pulmonares de tortugas marinas exhiben una intensa vasoconstricción cuando son expuestos a serotonina y acetilcolina sugieren que el esfínter arterial pulmonar es una estructura anatómica vasomotora relevante para generar el *shunt* intracardiaco en las tortugas marinas (García-Párraga et al., 2018a). La vasoconstricción reduciría significativamente, llegando a anular, la perfusión pulmonar. En las tortugas marinas, la regulación autonómica del flujo sanguíneo pulmonar parece haber evolucionado ampliamente conduciendo al desarrollo de los esfínteres arteriales pulmonares en comparación con las tortugas de agua dulce que habitan en lagos y ríos y que suelen realizar inmersiones más someras. En la especie de tortuga con una mayor capacidad de buceo en cuanto a profundidad y autonomía, la tortuga laúd, el esfínter pulmonar tiene un grosor mucho mayor de la pared muscular en comparación con la tortuga boba (de buceo más superficial) y presenta además pliegues longitudinales que presumiblemente podrían contribuir a un mejor sellado del vaso (Garcia-Parraga et al., 2017; Wyneken, 2001a).

En nuestra opinión, esta característica anatómica tan exclusiva de las tortugas marinas proporciona una ventaja fisiológica adaptativa crucial para el buceo profundo en estas especies. De hecho, la profundidad hemos podido evidenciar que es también uno de los principales factores de riesgo en el padecimiento de la DCS en tortugas marinas que quedan atrapadas, tal y como ya evidenciamos en un primer trabajo (Fahlman et al., 2017a) y reforzamos con más información en el Capítulo 3 de este trabajo de Tesis.

Sin embargo, y a pesar de no contar con esta estructura específica en las arterias pulmonares, los galápagos de agua dulce también serían capaces de general un *shunt* pulmonar completo (Burggren and Shelton, 1979; White et al., 1989). Debe haber por tanto una funcionalidad adicional que haya empujado por presión evolutiva al desarrollo de esta estructura en especies de buceo profundo. En este sentido, proponemos que los esfínteres pulmonares podrían facilitar un mecanismo fisiológico de seguridad en caso de necesidad para poder acceder a las reservas de O_2 pulmonar y/o poder eliminar el exceso de dióxido de carbono durante inmersiones prolongadas y profundas con limitado acceso a la superficie o ante un aumento de la demanda aeróbica (García-Párraga et al., 2018b; Malte et al., 2016a; Malte et al., 2016b; Wang and Hicks, 1996b; Wang et al., 1997; Wang et al., 2001). La coincidencia (*matching*) puntual de ventilación y perfusión pulmonar durante períodos cortos estrictamente regulados y controlados en base a la relajación del esfínter por inducción simpática, podría permitir un intercambio preferente de oxígeno y dióxido de carbono con un mínimo riesgo de absorción de nitrógeno (Fahlman et al., 2018; Farhi, 1967; Farhi and Yokoyama, 1967; West, 1962). Sin embargo, si la perfusión del pulmón se mantiene en flujos elevados o durante demasiado tiempo a profundidades por encima de la profundidad del colapso faveolar completo, la disminución del cociente ventilación perfusión favorecería la absorción de N_2, que a su vez incrementaría el riesgo de EG tras el ascenso. Una vez que se forman burbujas en tejidos y en el sistema venoso, un *shunt* R-L asociado a un baipás pulmonar podría favorecer que las burbujas pasasen directamente a la circulación sistémica anulando la capacidad de los pulmones para actuar como filtro de burbujas (Bove, 1998; Cross and Jennings, 1994), y por tanto aumentando el riesgo de DCS tras su incorporación a la circulación sistémica (Fahlman et al., 2017a; García-Párraga et al., 2014; Vann et al., 2011).

Gracias al descubrimiento de la enfermedad en las tortugas pudimos poner en evidencia por primera vez lo que ya se sospechaba en base a estudios previos con mamíferos marinos desde 2003 (Jepson et al., 2003): la confirmación de la existencia de la DCS en animales buceadores apneístas. La posibilidad que nos ha brindado la aplicación del tratamiento hiperbárico en las tortugas marinas afectadas permitió confirmar la remisión de los síntomas clínicos y con ello la enfermedad. Esto demostraría que los mecanismos adaptativos para el buceo no son infalibles bajo determinadas circunstancias, proporcionando una explicación más completa de la fisiopatología del proceso en este y otros modelos animales. Aunque como hemos visto en el caso de la tortuga, la falta de septo interventricular y la presencia de los esfínteres de las arterias pulmonares, daban opción a un mecanismo anatómico para minimizar la perfusión pulmonar durante el buceo, a la hora de proponer una teoría similar en mamíferos marinos, las restricciones anatómicas nos empujaron a hipotetizar un posible mecanismo funcional (García-Párraga et al., 2018b). Un *shunt* funcional también podría ofrecer la posibilidad de gestionar selectivamente el intercambio de gases en base a las variaciones de perfusión pulmonar tal

y como hemos descrito que podrían hacer las tortugas gracias a su esfínter a nivel de la arteria pulmonar. En cetáceos en condiciones de buceo, el predominio parasimpático y gasto cardiaco reducido, disminuiría también mucho el flujo de sangre en el circuito pulmonar, pero en este caso al no poder recurrir a un shunt intracardiaco como las tortugas, se produciría una perfusión selectiva de las zonas no ventiladas del pulmón (zonas con alveolos colapsados), evitando el intercambio gaseoso. En ambos casos, cetáceos y tortugas, la base para regular el intercambio de gases a nivel pulmonar sería la misma, aunque a través de mecanismos diferentes y en ambos casos ante situaciones especiales y de aumento de la demanda, el incremento de la frecuencia cardiaca podría verse aumentado mediante la generación de pequeñas arritmias permitiendo que cierta cantidad de sangre pudiese alcanzar zonas altas más ventiladas del pulmón y un intercambio selectivo de gases. Las situaciones de estrés, pánico o ejercicio intenso de forma mantenida en profundidad podrían llevar a un incremento del gasto cardiaco y reversión del *shunt* pulmonar/intrapulmonar, perfundiendo en demasía regiones aun ventiladas (no colapsadas), absorbiendo un exceso de nitrógeno y llevando a la descompresión tras su emergencia en superficie.

En referencia al **segundo objetivo**, tratamos de ofrecer la información más relevante que hemos podido generar en lo referente al diagnóstico y tratamiento de esta nueva enfermedad, recopilando nuestra experiencia a lo largo de estos años durante el trabajando con más de 300 animales afectados.

B –APORTACIONES DE ESTE TRABAJO AL DIAGNOSTICO Y A LA MEJORA EN EL MANEJO DE TORTUGAS PROCEDENTES DE PESQUERÍAS EN CENTROS DE RECUPERACIÓN

En referencia al diagnóstico, la ecografía se establece como la técnica más sensible a la hora de detectar la presencia de burbujas intravasculares. Sin embargo, las técnicas de radiografía y sobre todo de tomografía, son superiores en cuanto a la capacidad de cuantificación y de evaluación de la distribución orgánica del gas patológico. Para los trabajos a bordo de buques pesqueros, la técnica de la ecografía parece la única plausible de cara a poder ir evaluando los animales capturados tal y como hicimos en los estudios realizados en Brasil e Italia, incluidos en el Capítulo 3. Sin embargo, es importante destacar, que la clasificación en base a su severidad del embolismo diagnosticado a bordo de pesquerías no es necesariamente comparable con la clasificación realizada en el CR, debido a que ni las técnicas diagnósticas ni los tiempos transcurridos tras alcanzar la superficie hasta el examen, son comparables. Como hemos visto, si nos basamos sólo en la técnica ecográfica, esto puede llevar a una sobreestimación de la cantidad de burbujas cuando los animales se encuentran en fase de gas-off o a una subestimación de la severidad sin prácticamente burbujas circulantes en animales recibidos en el centro tras varias horas de eliminación de nitrógeno con la respiración durante la fase de aclaramiento. La radiología en estos casos sería más útil a la hora de poder categorizar los casos y establecer un sistema de cuantificación. Actualmente estamos trabajando para tratar de elaborar un sistema de cuantificación fiable mediante ecografía basado en el contaje de burbujas de gas en cámaras cardiacas similar a lo que está establecido en medicina humana (Germonpré et al., 2014). El mayor limitante es que, de cara a poder comparar la severidad en los diferentes casos, sería necesario hacer las comparativas de ecografías en los mismos tiempos de superficie con el fin de evaluar a todos los pacientes en la misma fase de la enfermedad. Además, como hemos venido viendo, la ecocardiografía es una técnica con muchas limitaciones en tortugas de gran tamaño donde la capacidad de penetración del ecógrafo en los tejidos es limitada y en muchos casos no es plausible explorar el corazón.

La tomografía es una técnica en realidad inaccesible al menos para su uso rutinario en la mayoría de los centros de recuperación. Sin embargo, es tremendamente útil para el estudio en detalle de la enfermedad ya que permite por un lado cuantificar con gran precisión la cantidad total de gas y hacer mapas de distribución, siendo además la única técnica que permite la adecuada evaluación del SNC donde asienta parte de la patología más relevante. Como describimos, incluso en casos leves podemos llegar a encontrar burbujas de nitrógeno dentro del canal vertebral y en la médula espinal, lo que nos hace pensar en los posibles daños que el gas podría ocasionar en un tejido tan sensible como el nervioso.

Un aspecto revelador que también aportamos con este trabajo es la presencia de secuelas en algunos animales supervivientes al insulto inicial que hemos podido evaluar mediante técnica de resonancia magnética, la ecografía renal o mediante estudios anatomopatológicos de órganos y tejidos en casos que finalmente se tuvieron que eutanasiar o murieron semanas después. Más allá de la propia supervivencia, es fundamental tener en cuenta que esta enfermedad podría tener una componente insidiosa generando lesiones en las tortugas tras su interacción con el aparejo, pero no llegándolas a matar a corto plazo. El estudio de las secuelas post interacción en los supervivientes es un campo de estudio que también despierta mucho interés de cara a regular las pesquerías (Wilson et al., 2014). Evaluar la mortalidad a largo plazo en tortugas marinas (generada como consecuencia de este tipo de secuelas) es sumamente complejo dada la interferencia con múltiples factores ambientales en los estudios que van más allá de 90 días (Southwood, 2013). Así, los trabajos de evaluación de las lesiones orgánicas en los supervivientes parecen la mejor aproximación al estudio del impacto subletal sobre los animales y es otra de las líneas de trabajo que actualmente mantenemos abierta.

En cuanto al diagnóstico post mortem, el presente trabajo de Tesis Doctoral se ha centrado en las lesiones macroscópicas que son muy evidentes en necropsia en los casos moderados y severos. Nuestro grupo continúa avanzando en el estudio de las lesiones a un nivel histopatológico y estos estudios se analizarán y publicarán en trabajos posteriores. En animales que aparecen varados y de los que no conocemos el origen, sin llegar a presentar un patrón patognomónico o exclusivo, sí que podemos decir que la distribución del gas patológico podría sugerir si el animal ha podido morir por el EG o, por el contrario, que el gas observado podría estar más asociado a fenómenos putrefactivos. La presencia de gas fundamentalmente acotada a cámaras cardiacas, vasos renales y mesentéricos en animales relativamente frescos, podría considerarse un buen marcador de posible interacción con pesca y muerte como consecuencia de la DCS. A las lesiones por presencia de gas se podrían sumar otras lesiones características, fundamentalmente las zonas de congestión y hemorragia en la zona caudo-ventral de los riñones, así como la congestión en bandas del intestino. En nuestra experiencia estas lesiones tan concretas las hemos detectado únicamente en casos de DCS y entendemos que se podrían llegar a considerar muy sugerentes de la enfermedad.

Es muy importante tener en cuenta desde el punto de vista diagnóstico, que la ausencia de gas intravascular visible durante la necropsia no descarta completamente la enfermedad ya que en los casos más leves este puede ser difícilmente evidenciable. En el caso contrario, la técnica de necropsia inadecuada puede llevar a infiltraciones de gas en los vasos sanguíneos que podrían llevar a confusión. Con el fin de mejorar la capacidad diagnóstica, recomendamos siempre que sea posible aplicar técnicas de imagen a los cadáveres (al menos radiografía simple DV y LL y si es posible TC).

El presente trabajo aporta además las primeras evidencias de que la congelación puede generar artefactos importantes llevando a un aumento del gas intravascular en los cadáveres procedentes de pesquerías. Por ello, se desaconseja congelar los animales o en caso de tener que recurrir a ella para su conservación, se debe tener siempre en cuenta la posible interferencia. Esto es un elemento importante en el que también estamos trabajando actualmente, ya que hay muchos barcos que congelan los animales que terminan muriendo en cubierta antes de llevarlos a puerto porque faenan semanas o incluso meses sin tocar tierra. Presumimos que animales capturados sin EG (con nitrógeno disuelto en sangre, pero sin llegar a formar burbujas) o con descompresión leve, podrían llegar a generar una imagen de descompresión moderada-grave tras la congelación del cadáver, por lo que de cara a la interpretación de los resultados siempre es preferible la refrigeración.

En referencia al tratamiento, es previsible que, en un contexto global, las opciones de poder tratar las tortugas con descompresión en una cámara hiperbárica sean prácticamente despreciables. En nuestro caso como centro de referencia en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad en las tortugas, disponernos actualmente de dos cámaras hiperbáricas que nos permiten tratar e investigar los protocolos más adecuados con los animales. Los protocolos de tratamiento HBOT en tortugas requieren de media de tiempos de exposición mucho más largos que en medicina humana para la eliminación total de gas patológico (aproximadamente 12-16h frente a 5h). Siempre y cuando los animales lleguen vivos al centro y puedan ser tratados, la terapia de los casos afectados por la enfermedad proporciona unas tasas de éxito muy elevadas en los animales afectados (por encima del 90%). Asumiendo la imposibilidad de acceder a una cámara hiperbárica en la mayoría de los centros de recuperación, en el presente trabajo también presentamos una técnica alternativa (aun por publicar) mediante la exposición prolongada a oxígeno normobárico que también permite la recuperación de los pacientes, si no de forma tan rápida como la cámara hiperbárica, sí al menos incrementando aparentemente la supervivencia en los casos en los que la hemos podido probar. Esta terapia que proporciona una atmosfera enriquecida en oxígeno (normobárico) en un contenedor estanco, parece ser también muy efectiva y mucho más económica que la HBOT. Aunque generalmente requiere de tiempos aún más prolongados que el HBOT para la eliminación total del gas intravascular (24-48h de tratamiento), la tasa de éxito es también muy buena incluso para casos con embolismo moderado. Sospechamos sin embargo que las posibles lesiones asociadas a la isquemia podrían agravarse al incrementar el tiempo de resolución, por lo estimamos que la terapia hiperbárica es, siempre que esté al alcance, la de elección.

En todos los casos, la aspiración de agua de mar asociada a la inmersión forzada generó un agravamiento del pronóstico y muy especialmente cuando se solapó con casos de EG. Ambas entidades patológicas se asociaron directamente con la mortalidad. En los casos combinados, la mortalidad fue

muy alta probablemente por la suma de los desequilibrios y en parte por el impedimento que tiene el pulmón para poder ir eliminado el exceso de nitrógeno que causa el embolismo. La aspiración es una patología más típicamente asociada a la inmersión prolongada y particularmente el trasmallo. Es siempre prioritario recuperar cuanto antes la capacidad respiratoria del animal antes de introducirlo en la cámara hiperbárica para que pueda re-oxigenarse y eliminar el exceso de nitrógeno absorbido restableciendo la perfusión tisular.

En referencia al **tercer objetivo**, tratamos de medir el alcance e impacto de la enfermedad tanto en las tortugas que nos llegan a nuestro CR como en estudios de campo en condiciones de pesca. Más allá del descubrimiento de la enfermedad, las implicaciones para el entendimiento en la fisiología del buceo, o los aspectos veterinarios más importantes para diagnosticar y curar la enfermedad tratando de recuperar el mayor número de animales posibles, consideramos vital el poder conocer la verdadera incidencia de la enfermedad, los factores de riesgo, así como la posible mortalidad asociada. En esta línea hemos dedicado el tercer capítulo de esta Tesis Doctoral a los estudios de impacto de esta nueva enfermedad en diferentes ámbitos (CR y a bordo), diferentes lugares (Mediterráneo y Atlántico) y diferentes especies.

La información preliminar generada en estos trabajos consideramos que puede ser muy valiosa para el mejor entendimiento de cómo puede llegar a afectar la enfermedad a las diferentes poblaciones de tortugas afectadas por las distintas pesquerías a nivel global si estimamos que una parte importante de las tortugas devueltas al mar termina muriendo como consecuencia de la descompresión sufrida. Como veremos en el desarrollo posterior, esperamos que la información aportada en el presente trabajo pueda servir para aportar nuevas ideas y soluciones que permitan la mejora de la gestión de las pesquerías minimizando el impacto que tienen sobre las poblaciones de estos animales amenazados de extinción.

C–APORTACIONES DE ESTE TRABAJO A LA MITIGACIÓN DEL IMPACTO DE LA PESCA Y LA CONSERVACIÓN DE LAS POBLACIONES DE TORTUGAS

A día de hoy la contribución real de la DCS a la mortalidad de las tortugas marinas a escala mundial es desconocida. Nuestras observaciones se basan principalmente en la interacción de tortugas bobas con 2 tipos de pesquerías (arrastre de fondo y trasmallo) en la Comunidad Valenciana y más recientemente en 2 nuevas regiones: Océano Atlántico Sur y Mar Adriático. Mediante la realización del trabajo de campo se trató de evaluar la verdadera incidencia, severidad e impacto de la enfermedad en las tortugas en las condiciones reales en las que se produce la pesca, incluyendo su posible asociación con la viabilidad y supervivencia a bordo y en el corto plazo de los individuos posiblemente afectados cuando no existe disponibilidad de atención en un centro de rehabilitación que pudiera prestar tratamiento veterinario. Este trabajo nos permitió también evaluar mejor la evolución de la enfermedad en su fase inicial (primeras 1-2 h) con el fin de poder conocer mejor la fisiopatología del proceso y establecer recomendaciones de manejo a bordo para minimizar sus efectos.

Los estudios a bordo sobre incidencia y severidad de la EG se realizaron con equipamiento portátil incluyendo estudios ecográficos, evolución del cuadro clínico y cuando fue posible, mediante la realización de necropsias en los cadáveres inmediatamente después de la captura accidental y durante las 2 primeras horas tras captura. Las pesquerías elegidas fueron arrastreros brasileños e italianos durante la época más favorable de cara a las interacciones, ya que su tasa de capturas por lance era muy superior a la de las pesquerías españolas, permitiendo incrementar mucho la probabilidad de capturar tortugas durante el embarque del equipo investigador.

Los hallazgos fueron muy reveladores al demostrar que el 100% de los animales examinados, mostraron signos compatibles con EG. Esto nos permite hacernos una idea del posible alcance real de esta enfermedad recientemente descubierta, pudiendo expandir los casos documentados de DCS fuera del Mediterráneo y en especies diferentes a la tortuga boba donde fue descrita por primera vez. Además, estos estudios aportaron nuevas evidencias de que la DCS efectivamente puede ser una causa de mortalidad muy importante pero nunca antes considerada, asociada con la pesca accidental de las tortugas y como consecuencia de la inmersión forzada.

Por regla general y en condiciones de campo, las tortugas que se recuperan activas del aparejo de pesca suelen ser liberadas inmediatamente y hasta ahora no se consideraba que este tipo de interacciones donde los animales se devuelven al mar conscientes y activos pudiesen generar una

mortalidad retardada significativa (Gilman et al., 2007; Lewison et al., 2013; Wallace et al., 2013). Los resultados de este trabajo apuntan a que muchas tortugas (si no todas) capturadas en ciertas pesquerías podrían desarrollar EG y posteriormente algunas podrían morir de forma retardada en cuestión de horas o días tras su liberación. La mortalidad asociada a la interacción por pesca podría ser de hecho, mucho más elevada que lo que indican las estimaciones actuales. Se requiere de una mayor cantidad de datos en base a estudios precisos sobre mortalidad tras la liberación inmediata en condiciones de campo con el fin de poder perfeccionar los cálculos actuales de estimación de la mortalidad. Estas estimaciones son de algún modo las que deberían regir las decisiones de manejo y regular la actividad pesquera de cara a la conservación de las poblaciones a largo plazo (Putman et al., 2020; Southwood, 2013).

Un año después de la publicación del descubrimiento de la enfermedad en 2014, la NOAA en USA nos invitó a participar en la reunión de expertos para el establecimiento y la elaboración de los criterios nacionales para evaluar la mortalidad post-interacción de las tortugas marinas en las pesquerías de arrastre, redes y nasas o trampas; en Shepherdstown, West Virginia, USA, 18-22 de agosto de 2015. En el informe final de la reunión se establece la importancia de considerar esta nueva enfermedad y la posible mortalidad adicional asociada con el fin de revisar y regular la actividad pesquera al tener impacto sobre las tortugas marinas como especies protegidas a nivel federal (Stacy et al., 2016). Sin embargo, se establece que, en base al desconocimiento actual, se hace necesario estudiar mejor el impacto de la enfermedad en condiciones de campo. En esta línea es precisamente es en la que hemos avanzado desde 2018, con los estudios a bordo de buques pesqueros y que pretendemos continuar haciendo a futuro en estas y otras nuevas pesquerías.

Con el fin de poder esclarecer el porcentaje de animales que llegan a morir como consecuencia de DCS en lugar de morir simplemente por asfixia/ahogamiento, debemos hacer un esfuerzo para reevaluar la verdadera causa de muerte en aquellos individuos capturados accidentalmente que salen vivos y terminan muriendo, se recuperan del aparejo en estado comatoso o directamente salen ya muertos de la red. Incluso habrá que estudiar en qué casos se produce una comorbilidad por diferentes procesos que conducen a la muerte como es el caso de la aspiración de agua de mar que según vimos en el Capítulo 3, junto con la presencia de embolismo, es uno de los predictores más potentes de mortalidad, tanto en tortugas capturadas en Comunidad Valenciana como en las pesquerías de Brasil e Italia. Los procedimientos actuales empleados a bordo de los barcos de pesca para tratar de resucitar tortugas comatosas, aunque son útiles para ejemplares que pudieran estar ahogados, probablemente sean ineficaces para casos de DCS.

En el tercer bloque del Capítulo 3, ponemos de manifiesto que al menos 4 especies de tortugas son susceptibles de sufrir EG post descompresión tras su interacción con pesquerías. A pesar de tener más

de 300 casos de EG confirmados en tortuga boba, únicamente disponemos de casos aislados de cada una de las 3 nuevas especies (laúd, verde y olivácea) ya que no hemos tenido acceso a más ejemplares de estas especies procedentes de pesquerías. Estos hallazgos sirven de evidencia para al menos decir que todas las especies de tortugas, podrían ser potencialmente susceptibles de sufrir EG, y muy especialmente cuando la inmersión forzada se produce a profundidades elevadas.

Considerando los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral, pensamos que el EG podría llevar a subestimar de forma importante la mortalidad asociada a las interacciones con la pesca. En caso de ser así, los cálculos de mortalidad global de tortugas marinas asociadas con la pesca accidental realizados hasta ahora (Lewison et al., 2004a), deberían ser revisados ya que podrían ser mucho mayores que lo que inicialmente se preveía.

La tortuga laúd es la especie de tortuga marina mejor adaptada al buceo profundo, y por lo tanto debería ser la de mayor capacidad para hacer frente a los desafíos y efectos derivados de la recompresión-descompresión (Davenport et al., 2009; Fossette et al., 2010; Murphy et al., 2012). Sin embargo, hemos hallado evidencias de que incluso esta especie también se ve afectada por EG cuando interacciona con pesca. Este caso en particular además ocurrió a una profundidad muy inferior a su profundidad media de buceo (Robinson and Paladino, 2015). Si esta especie (que es la mejor adaptada para la inmersión) se ve afectada por EG en caso de captura accidental, se podría sugerir que muy probablemente todas las demás especies de tortugas podrían llegar a ser de algún modo vulnerables al EG.

Aunque la mayoría de las evidencias aportadas por el presente trabajo se han basado en los trabajos realizados con la tortuga boba, ya que es la especie más común en el Mediterráneo Occidental, no podemos excluir al resto de especies de tortugas marinas (7 en total) de ser potencialmente susceptibles de sufrir también descompresión bajo determinadas condiciones de interacción pesquera o retención en profundidad. De ahí que se haga necesario el poder continuar los estudios de seguimiento e impacto de la enfermedad en todas las especies posibles.

D –FACTORES DE RIESGO A CONSIDERAR EN CASO DE INTERACCIÓN

Las condiciones ambientales, incluyendo la temperatura del agua, la profundidad, la velocidad de ascenso y el tiempo de inmersión, afectan el riesgo de DCS en humanos (Germonpre et al., 1998; Harrah et al., 2008; Vann et al., 2011). En el presente trabajo, estos factores también están asociados al riesgo de descompresión y/o la mortalidad en las tortugas tal y como se concluye de los resultados del primer apartado del Capítulo 3. Junto a la aspiración de agua de mar y la severidad del embolismo, los principales factores ambientales asociados a la mortalidad de las tortugas fueron la duración de calado del arte, la profundidad de captura y la temperatura del agua en superficie. Sin embargo, en referencia al riesgo de padecimiento de embolismo, los principales factores implicados fueron la profundidad de calado, el tipo de arte, la presencia de aspiración de agua o el tamaño de la tortuga. En las evaluaciones a bordo de buques pesqueros, tanto la presencia de aspiración de agua de mar como el estado de consciencia de los animales en el primer examen neurológico tras la recuperación del aparejo, fueron ambos buenos predictores tanto de mortalidad como de la posible severidad de embolismo. En estos casos, el único factor ambiental asociado con la severidad del embolismo fue la duración del arrastre.

La velocidad de ascenso del aparejo fue un factor que no se pudo registrar de forma rutinaria (no es un parámetro que se registre habitualmente por los pescadores) y en general es bastante constante en la mayoría de las pesquerías. Por tanto, a pesar de ser un factor potencialmente relevante en base a su confirmación como factor de riesgo demostrable en otras especies (Berghage et al., 1974; Lillo et al., 2002; Mahon and Regis, 2014b), no hemos podido extraer conclusiones sobre su impacto en el desarrollo de la enfermedad en tortugas, aunque ciertamente sería un valor importante para considerarlo en estudios a futuro.

Nuestros resultados van en la línea del trabajo previo de algunos autores que sí evidenciaron que la tolerancia a la inmersión forzada en tortugas marinas se puede ver condicionada por factores como el tamaño de la tortuga, la actividad y la temperatura del agua (Lutcavage and Lutz, 1991; Stabenau et al., 1991). En relación con la temperatura, por regla general y en base a nuestra experiencia, la mayor cantidad de capturas por arrastre en el Mediterráneo (Valencia e Italia) se dio siempre en los meses fríos (entre noviembre y marzo y especialmente en los meses de diciembre y febrero). Hochscheid *et al.* (2007) estudió el comportamiento de tortugas marcadas en el Mediterráneo, detectando un aumento del tiempo de inmersión estática en el fondo durante los períodos más fríos del año. Este comportamiento más frecuente en invierno podría explicar las mayores tasas de captura en arrastre durante el invierno observadas en nuestra región. Sin embargo, más allá de las implicaciones

referentes al riesgo de interacción, se desconoce las implicaciones de la temperatura en el desencadenamiento de la enfermedad. Más allá del mayor número de casos, en nuestro trabajo no hemos podido hallar diferencias significativas en relación a la temperatura del agua con la frecuencia o gravedad del embolismo, pero si hemos detectado una asociación con la mortalidad en los casos atendidos en centros de recuperación. La temperatura del agua no se asoció con la mortalidad en los análisis estadísticos de las capturas a bordo de buques pesqueros. Sin embargo, en los estudios de Brasil, sí que hemos podido detectar una mayor mortalidad a bordo (temprana) asociada en las capturas de las campañas de verano (57,14% a una temperatura promedio de 21,95ºC), con respecto a las campañas de invierno de Brasil (35,71% a 17,03ºC de media) o de Italia (2,94% a una temperatura promedio del agua de 9,56ºC). En la línea de nuestras observaciones de una menor mortalidad a menor temperatura del agua, algunos países como USA permiten tiempos de arrastre más prolongados en los meses más fríos en base a las observaciones realizadas sobre los tiempos de inmersión voluntaria a diferentes temperaturas del agua (Bentivegna et al., 2003; Hochscheid et al., 2005; Moon, 1992; Moon et al., 1997). A temperaturas más bajas, la tasa metabólica y los niveles de actividad se reducen, alargándose el tiempo de inmersión.

En cualquier caso, los datos siguen siendo limitados e insuficientes, además de estar sesgados hacia un mayor número de casos en los meses más fríos, por lo que no podemos sacar conclusiones definitivas requiriéndose de una mayor cantidad de casos.

La menor temperatura corporal de las tortugas marinas frente a los mamíferos ha sido de hecho considerada tradicionalmente como un posible mecanismo de protección contra de DCS, ya que a menor temperatura los fluidos corporales pueden soportar una mayor presión de gas disuelto sin llegar a formar burbujas (Fossette et al., 2010). Sin embargo, la disminución de la temperatura también aumentaría la solubilidad del nitrógeno proporcionalmente en profundidad, aumentando así el riesgo de DCS durante el ascenso en comparación con los mamíferos y muy especialmente si las temperaturas en superficie o ya en cubierta son mayores que en profundidad. Durante los meses de invierno, este incremento de la solubilidad de los gases a baja temperatura podría aumentar el riesgo de DCS tras la captura. La reducción ambiental de la presión tras el ascenso y el posible incremento de la temperatura en cubierta con el calentamiento jugarían ambas a favor de la formación de burbujas en caso de sobresaturación, y es probablemente el suceso que describimos con las capturas de Brasil donde los animales capturados en verano y mantenidos en cubierta parecían descomprimirse de forma más rápida acumulando grandes cantidades de gas intravascular visibles en las necropsias.

En cuanto a la influencia de la profundidad, parece que tanto en nuestros estudios previos (Fahlman et al., 2017a) como en base al análisis de los datos actuales, la profundidad se consolida como uno de los factores de riesgo a considerar para el desencadenamiento de la enfermedad, la severidad del

embolismo alcanzado y la mortalidad. Sin embargo, y tal y como reportamos con anterioridad, algunos animales capturados por los arrastreros de pesca a más de 60 m de profundidad estaban llenos de gas tras el ascenso, mientras que otros de similar tamaño, procedentes de las mismas aguas, mismas pesquerías, la misma profundidad, y durante la misma temporada no presentaron niveles de gas detectable. Posibles explicaciones para esta disparidad podrían ser las diferencias reales en la profundidad de captura (desconocidas con certeza para nosotros en muchos casos de capturas por arrastreros), el tiempo de inmersión forzada (dependiendo de la duración del lance y sobre todo del tiempo transcurrido entre el momento de interacción hasta el final del arrastre) y la susceptibilidad/respuesta individual al estrés por parte de cada tortuga. En base a la información preliminar que hemos ido recabando, no parece ser necesario alcanzar grandes profundidades para que las tortugas marinas puedan llegar a desarrollar DCS. De hecho, un tercio de los animales atrapados en redes de trasmallo en zonas muy someras (entre 3 y 10m) mostraban signos de EG en las pruebas de imagen. El animal que sufrió de EG a una menor profundidad, procedía de un trasmallo a 4m. Por debajo de los 10 metros, más del 70% de los casos presentados de trasmallo mostraban un grado de embolismo leve, pero hubo un caso de embolismo moderado recuperado de un trasmallo a tan solo 5m y un caso de embolismo severo a tan solo 13m de profundidad. En el caso del arrastre, por debajo de los 25m la mayoría de los casos son leves mientras que por encima de los 75m la mayoría de los casos de EG son graves. Existen algunos casos sin embargo de embolismo severo en arrastre a tan solo 25m. En base a estos hallazgos, habría que considerar que incluso las artes de pesca costeras más someras (como redes de arrastre de fondo para capturar camarones y otros peces costeros) y que actualmente registran un alto número de capturas accidentales de tortugas (Finkbeiner et al., 2011) podrían llegar a inducir DCS en los animales si la inmersión es suficientemente prolongada.

La duración de la inmersión es otro factor crítico que considerar que vimos se asocia fundamentalmente con la mortalidad y con el riesgo de aspiración. La duración de calado se asoció también a la severidad del embolismo en base a los trabajos realizados a bordo de buques pesqueros, pero no así en base a los datos procedentes de nuestro CR. Berkson (Berkson, 1967) determinó que la duración de la inmersión no fue un factor limitante para permitir la saturación de nitrógeno durante el buceo, alegando que las tensiones de nitrógeno en sangre alcanzaban un máximo y luego caían o se mantenían, pero siempre muy por debajo del nivel de saturación. El autor como hemos mencionado previamente sugirió que podría haber un mecanismo subyacente de compensación en las tortugas. En general, los animales atrapados en las redes de trasmallo (generalmente a profundidades tan bajas como 5 a 15 m con un promedio de 14,3m, pero con una duración promedio de calado promedio de 12 h) tienden a mostrar menores tasas (48,72%) y menor gravedad de embolismo (score promedio 0,77) que animales similares capturados en arrastreros (62,13% de casos y score promedio de 1,15) en

las mismas aguas a mayor profundidad (25-90 m con un promedio de 46,8m) pero con tiempos mucho más cortos de calado (de 2,5h de promedio). Sin embargo, los casos de aspiración y la mortalidad global son muy superiores en el trasmallo con respecto al arrastre. Mientras que los casos de aspiración se dan en un 35% de las capturas en trasmallo, sólo aparece en un 2% de los casos de arrastre. La mortalidad aguda global (antes de llegar al CR) se situaría en 27,56% para el trasmallo y el 6,62% en el arrastre, mientras que la mortalidad total considerando también el paso por el CR estaría en el 32,05% para los casos de trasmallo y el 9,19% en el arrastre. Este hallazgo estaría en consonancia con las estimaciones previas de mortalidad por pesca accidental a nivel mundial, que sugerirían que los aparejos fijos de fondo tienen tasas de mortalidad asociada más altas que los ubicados a menor profundidad (Wallace et al., 2013), excepto si los aparejos se encuentran a profundidades mayores al rango normal de buceo de las tortugas donde se reduciría el riesgo de encuentro. Para los casos confirmados de embolismo, la mortalidad ascendería a un 28,91% (57,89% en trasmallo y 14,2% en arrastre) mientras que comparativamente la mortalidad sería mucho menor para los casos libres de embolismo 3,76% (7,5% en trasmallo y 0,97% en arrastre). Estas cifras en principio evidenciarían que la presencia de embolismo multiplicaría hasta por 10 veces las probabilidades de terminar muriendo a pesar de la atención en el centro.

En el caso de los trabajos de campo que incluyeron Brasil e Italia, también pudimos evidenciar que los tiempos promedio de arrastre mayores (3,5-4h) inducían a priori cuadros más severos de descompresión que los observados en Comunidad de Valenciana con tiempos de arrastre promedios más próximos a las 2.5h, aunque como hemos comentado anteriormente ni las técnicas diagnósticas, ni los tiempos de examen fueron los mismos por lo que los resultados no serían directamente comparables. En los estudios a bordo los únicos factores que se asociaron de forma significativa con la mortalidad fueron la presencia de aspiración de agua y la reducción del nivel de consciencia en el examen neurológico al recuperar la tortuga del aparejo. En nuestra experiencia los animales que evidencian aspiración o que se recuperan comatosos de las redes tienen muy mal pronóstico y la mayoría termina muriendo. Ambas variables se asociaron además a la severidad del embolismo.

Por regla general, las tasas de mortalidad generalmente se pueden calcular en base a dos escenarios posibles: (a) el número total de tortugas capturadas que aparecen muertas en aparejos de pesca (asumiendo que todos los animales vivos pero en estado comatoso que se devuelven al mar consiguen sobrevivir) y (b) el número total de tortugas capturadas encontradas muertas o en estado comatoso (suponiendo que finalmente todas mueren tras su devolución al mar) (Casale et al., 2017). Nuestros estudios con animales en centros de recuperación y más recientemente los estudios a bordo de buques pesqueros sugieren que el escenario más correcto sería el segundo. La DCS podría estar afectando a muchos de los animales (si no todos) que se liberan con suficiente nivel de consciencia y actividad,

pero muchos de estos animales que no han muerto de forma aguda en cubierta al menos en parte como consecuencia directa de la enfermedad, podrían terminar muriendo días después tras la suelta.

A pesar de la escasez de datos fiables disponibles globalmente en referencia a la supervivencia post-interacción (Maxwell et al., 2018; Parga et al., 2020; Swimmer et al., 2006), el grupo de especialistas de tortugas marinas de la UICN recomienda que aquellas que se encuentran vivas y con cierto nivel de actividad, deben ser liberadas y reintroducidas en el mar en un breve espacio de tiempo (Epperly et al., 2004; Gerosa and Casale, 1999). Como estos animales están activos en el momento de la liberación, generalmente no se estima que puedan aportar casos de muerte en el cálculo de las tasas de mortalidad accidental. Sin embargo, nuestros hallazgos sugieren que algunas de las tortugas que se recuperan vivas y activas del aparejo, terminan muriendo en cuestión de horas o días tras su liberación (Fahlman et al., 2017a; García-Párraga et al., 2014; Parga et al., 2020). Concretamente la tasa de global de mortalidad confirmada post interacción para nuestros trabajos a bordo de arrastreros en Italia y Brasil se estableció en un 36,11%. De los 36 animales que se liberaron con marcas funcionales, 13 dieron señal de muerte antes de los 30 días y sólo 23 sobrevivieron el primer mes. De ser correcta esta proporción y ser comparable este resultado para el resto de las pesquerías, más de 1/3 de las tortugas que se liberan en una condición relativamente buena, podrían no llegar a superar el primer mes de vida post-interacción.

Este parámetro de mortalidad asociada a pesquerías es crítico dada la presión que ejercen las pesquerías sobre las diferentes especies de tortugas (Lewison et al., 2004a; Lewison et al., 2014; Lewison et al., 2018; Wallace et al., 2008; Wallace et al., 2013; Wallace et al., 2010). Se hace por tanto muy necesario seguir profundizando en el estudio de la supervivencia post-interacción, con el fin de poder hacer una estimación más precisa de la mortalidad asociada a pesquerías en tortugas marinas y la sostenibilidad de las poblaciones.

Nuestro trabajo actual profundiza en el hallazgo inicial de que la profundidad es un factor decisivo en cuanto al riesgo de descompresión. En base a algunos estudios preliminares y modelos estadísticos generados por nuestro grupo, demostramos que, en tortugas bobas, la probabilidad de descompresión en un grado tal que se comprometa la supervivencia aumenta para el caso de las artes de arrastre de fondo (Fahlman et al., 2017a). En este caso, y dadas las condiciones particulares de cada región, vemos que la probabilidad de sufrir la enfermedad, la gravedad de los casos y el riesgo de morir, aumentan con la profundidad de calado. Los resultados actuales van en la línea de los que ya publicamos donde estimamos que en pesquerías de la Comunidad Valenciana, el arrastre a una profundidad promedio de 65m, podría generar un 50% de casos de embolismo moderados-graves que a priori podrían comprometer la vida de los animales (Fahlman et al., 2017a). Estos resultados a partir de nuestra casuística en centros de recuperación, la hemos podido verificar ahora en Italia en un contexto similar

al de la Comunidad Valenciana (con profundidades de arrastre promedio y temperaturas parecidas, aunque con tiempos promedio de arrastre sensiblemente mayores de 4,5h frente a 2,5h). El resultado de la mortalidad verificable post interacción para estas pesquerías fue del 45,45%. Casi un 50% de los animales capturados y liberados en las primeras 1-2h terminaron muriendo antes del primer mes.

La estrategia principal de mitigación para evitar los casos de enfermedad entendemos debe concentrarse sobre todo en la prevención del encuentro de la tortuga con el arte de pesca y en su caso la minimización del riesgo de DCS mediante el acortamiento de los tiempos y profundidades de inmersión. El tratamiento en cámara hiperbárica, aunque muy eficaz, en realidad no es aplicable a gran escala para la mayoría de los casos. Sería inviable en el contexto de trabajo en el que se desenvuelven la inmensa mayoría de las pesquerías y estaría al alcance de muy pocos centros de recuperación.

E –OPCIONES PARA MINIMIZAR LA POSIBILIDAD DE ENCUENTRO Y LA INTERACCIÓN

Por lo que hemos podido evaluar hasta el momento, la DCS en tortugas está inherentemente asociada a la pesca accidental. Así, probablemente una de las estrategias más eficaces de cara a reducir el impacto de la enfermedad sería el de tratar de minimizar las posibilidades de interacción pesquera a profundidad. Existen varios factores que pueden facilitar la interacción de las diferentes artes de pesca con las tortugas marinas. Ciertos aspectos de la biología de estos animales, el clima y las condiciones oceánicas y factores intrínsecos a los aparejos de pesca podrían afectar a la capturabilidad de las tortugas marinas tal y como hemos visto en nuestro estudio con las pesquerías del arrastre en el Mediterráneo durante los meses de invierno. El reconocimiento de estos factores es fundamental en el diseño adecuado de las estrategias de mitigación de impacto en general y de la DCS en particular.

Las tortugas marinas pasan la mayoría de su tiempo a profundidades inferiores a 40 m (Polovina et al., 2003; Swimmer et al., 2002; Watson et al., 2005), sugiriendo que las artes por encima (más someras) de este nivel en la columna de agua facilitarían la posibilidad de encuentro. Este estimamos que podría ser de hecho uno de los factores clave que justificaría que las pesquerías de arrastre de Castellón sean la principal fuente de capturas que llegan a nuestro CR procedentes de toda la Comunidad Valenciana, aportando un 62,52% de los casos. En general, la legislación europea actual prohíbe el arrastre a menos de 50m en todo el Mediterráneo y la Comisión Europea ha planteado en varias ocasiones, la posibilidad de restringir aún más el arrastre a profundidades a partir de los 100m. Sin embargo, en la provincia de Castellón en concreto, dadas las condiciones batimétricas y la extensión de la plataforma continental hasta el talud, existe una excepción que permite faenar a partir de los 30m para que los barcos no se tengan que alejar tanto de la costa y gastar tanto combustible. Conocida la biología de estas especies, a estas profundidades el riesgo de encuentro se presupone mucho mayor. Estudios realizados en diferentes países, demuestran la existencia de una asociación directa entre la pesca a gran profundidad y la reducción de las tasas de captura de tortugas en comparación con el número de interacciones detectadas cuando se cala a profundidades menores (Council and Conservation, 1990; Epperly et al., 2002).

La temperatura del agua también podría tener un papel relevante no solo en la supervivencia post interacción sino también en el riesgo de que se produzca la interacción. En aguas cálidas aumenta el metabolismo y la actividad general, y con ella el número de capturas de tortugas en artes fijos, artes de deriva y artes que emplean cebos (Watson et al., 2005). En el caso contrario, las tortugas parecen reducir su actividad durante los meses de invierno (Hochscheid et al., 2007; Hochscheid et al., 2005) estando también más limitada su capacidad para evadir la interacción activa con las artes de pesca

dinámicas (en movimiento) como redes de arrastre (García-Párraga et al., 2014; Lutcavage and Lutz, 1991; Stabenau et al., 1991), lo que también resultaría en un aumento de las tasas de captura accidental en estas otras pesquerías tal y como se evidencia en el presente trabajo.

Las agregaciones estacionales, las zonas de concentración a nivel biogeográfico o las áreas relevantes asociadas a la filopatria (que generalmente responden a razones biológicas y ecológicas como la alimentación, la anidación y migración), podrían ser elementos predictivos a tener en cuenta de cara al incremento del riesgo de captura accidental, pudiendo tener un impacto relevante en algunas de las poblaciones de tortugas marinas o para determinados rangos de edad (Henwood, 1987; Kleiber and Boggs, 2000).

El establecimiento de vedas o restricciones espaciotemporales a determinadas actividades de pesca en ciertas áreas y en ciertas épocas podría ser una medida eficaz para evitar faenar en los momentos y puntos más álgidos de concentración de tortugas marinas (Gilman et al., 2009). Sin embargo, incluso esto podría tener efectos negativos en el contexto más global de la conservación. El cierre de una zona o una estación para reducir la captura accidental de algunas especies puede concentrar el esfuerzo pesquero en otras zonas o períodos generando otros problemas asociados (Hall et al., 2000). Aunque el cierre de áreas puede tener importantes efectos económicos adversos en la industria pesquera, son herramientas que los gestores de la pesca pueden utilizar para complementar con otras medidas de gestión (Gilman et al., 2009).

Asumiendo que se va a calar dentro del rango de distribución normal de las tortugas y que se van a producir encuentros y por tanto capturas accidentales, una medida de mitigación que valdría la pena considerar e investigar, podría ser el tratar de minimizar la profundidad y el tiempo de calado (cuando sea posible). Tanto en los estudios con arrastreros en Comunidad Valenciana, como en los estudios realizados en Brasil e Italia, los tiempos de arrastre por encima de las 3 horas (a profundidades promedio entre los 40-50m en las 3 pesquerías), parecen inducir inexorablemente altas tasas de descompresión, en muchos casos de un grado moderado y/o grave que pueden acabar con la vida de los animales. La reducción en los tiempos de arrastre sí que podría tener un gran efecto en la reducción de la mortalidad de las tortugas que interaccionan. Aunque el tiempo final de faenado sea el mismo, los arrastres más cortos recuperando la red cada cierto tiempo, redundan en una disminución de la mortalidad (Casale et al., 2004; Henwood and Stuntz, 1987; Sasso and Epperly, 2006; Wibbels, 1989). Podemos esperar un aumento de las tasas de mortalidad como resultado de largos periodos de inmersión forzada. Además, el distrés, ciertas respuestas comportamentales (como las que puedan llevar a la aspiración de agua), las alteraciones fisiológicas, así como el daño físico por la captura se ven exacerbados con tiempos de inmersión prolongados (Harms et al., 2003; Lutz and Bentley, 1985a; Lutz

and Dunbar-Cooper, 1987; Snoddy and Southwood Williard, 2010; Stabenau and Vietti, 2003; Wyneken et al., 2013b).

Sasso y Epperly (Sasso and Epperly, 2006) observaron que arrastres de corta duración (menos de 10 min) inducían una mortalidad insignificante en las tortugas, aunque estos tiempos no parecen viables desde un punto de vista comercial. La mortalidad, sin embargo, aumentó progresivamente en función del tiempo, con una inflexión a partir de los 50 min del arrastre. Hay que tener en cuenta que los efectos de la captura no solo dependen del tiempo que está el aparejo en el agua sino también del momento en que la tortuga interacciona durante el arrastre. Las tortugas capturadas hacia el final de un arrastre de larga duración pueden presentar mejor condición que los animales capturados al inicio de un arrastre más breve. Las restricciones en la duración de cada lance se aplican de forma obligatoria como medida de mitigación en la industria camaronera en algunos países, así como alternativa de compensación ante la falta de otras estrategias de mitigación a través de los sistemas de reducción de capturas accidentales (BRDs) como es el uso de los TEDs. Los TED son elementos que modifican las propias artes de pesca con el fin de minimizar el impacto de la interacción cuando la tortuga entra en el aparejo. Se desarrollaron con el fin de reducir las capturas accidentales de tortugas marinas en redes de arrastre camaroneras de USA en 1980 a través de un acuerdo de colaboración entre el Servicio Nacional de Pesquerías Marinas (NMFS) y la flota comercial de barcos camaroneros (Epperly et al., 2002; Epperly, 2002). El uso de TEDs en redes de arrastre camaroneras ha contribuido a la reducción de la mortalidad en la gran mayoría de tortugas en USA (Finkbeiner et al., 2011). La adopción de TEDs fuera de USA ha sido impulsada tanto por acción propia como por los requerimientos exigidos por USA para comercializar las capturas en su territorio. El cumplimiento y la verificación de la operativa de pesca por parte de los observadores son el principal reto a la hora de implantar el requerimiento de uso de estos dispositivos.

En el caso que nos ocupa, la implantación de dispositivos TED en redes de arrastre por todo el mundo, podría contribuir de forma muy significativa a la reducción del riesgo de embolismo en tortugas marinas, ya que, de algún modo, se acortarían mucho los tiempos en los que los animales quedarían retenidos en profundidad al poder liberarse por sí mismos antes de entrar en el copo. A priori, tiempos más cortos deberían llevar a grados de descompresión mucho menores, aunque esta suposición se debería verificar siendo este un área de estudio importante para desarrollar en el futuro.

Existen también numerosas modificaciones que se pueden realizar en las pesquerías con redes de enmallamiento pasivo con el fin de reducir las interacciones con tortugas marinas (Gilman et al., 2010). Restricciones a la longitud de la red, y la reducción de la altura hasta un mínimo imprescindible, hacen que sea más fácil para las tortugas nadar alrededor o esquivar las redes sin interactuar de forma accidental. Un menor tamaño de luz de malla ofrece menos opciones al enmallamiento de una

extremidad o de la cabeza y produciendo en su lugar un choque con la red con un resultado mucho más seguro para el animal. Sin embargo, esta modificación puede no ser compatible con la captura de especies objeto de la pesquería. Minimizar el número de líneas verticales (líneas de flotación) o de fijación al fondo, puede reducir las probabilidades de atrapamiento de las extremidades en distintos tipos de arte, incluyendo las redes de trasmallo, y minimizar el tamaño y número de flotadores pueden también reducir el potencial de atracción de las tortugas hacia las redes.

También en aras de reducir la interacción, se pueden aplicar medidas sensoriales de mitigación (visuales, olfativas, auditivas), como el uso de colorantes en los cebos de palangre que los hagan menos apetitosos para las tortugas (Yokota et al., 2009) o mediante dispositivos lumínicos en las redes (Wang et al., 2013). La tipología de cebos empleados en el palangre también tiene un efecto marcado sobre la tasa de captura accidental en tortugas marinas (Yokota et al., 2009). Existen también dispositivos acústicos que parecen tener cierto efecto para ahuyentar las tortugas y otras especies marinas reduciendo las posibilidades de interacción sin afectar sensiblemente a las especies objetivo (Southwood et al., 2008).

A pesar de la dificultad y posible coste de implantación, en nuestra opinión, la colocación de TEDs y/o la reducción de los tiempos de calado en cada lance (no necesariamente el tiempo de pesca total), podría permitir aumentar sustancialmente las tasas de supervivencia a niveles comparables a las prácticas permitidas de inmersión forzada que se realizan con fines de investigación (Harms et al., 2003; Snoddy et al., 2009). Se trataría de incrementar la frecuencia de verificación de las posibles capturas accidentales en las diferentes artes de pesca (sacando el arte del agua con el fin de minimizar los tiempos de inmersión) y liberar a los animales que se detecten enmallados cada cierto tiempo.

F –EVALUACIÓN DE LA MORTALIDAD ASOCIADA A LA ENFERMEDAD

La mortalidad real de las tortugas en el medio marino es difícil de evaluar y ha sido tradicionalmente escasamente documentada (Council and Conservation, 1990). Desafortunadamente, hay relativamente pocos estudios disponibles sobre las tasas de mortalidad post-liberación de tortugas liberadas vivas después de las interacciones con los aparejos de pesca (Wilson et al., 2014). El uso de transmisores satelitales de tipo *pop-up* en tortugas pescadas accidentalmente como los empleados en nuestro estudio nos puede ayudar a mejorar las estimaciones de mortalidad retardada. Sin embargo, como hemos visto, la interpretación de los datos no es siempre clara ya que, por ejemplo, los transmisores pueden fallar independientemente de la supervivencia o la mortalidad de las tortugas (Snoddy and Southwood Williard, 2010; Swimmer et al., 2006), tal y como nos ha pasado a nosotros en las campañas italianas donde terminaron fallando 1 de cada 3 emisores. Afortunadamente, los nuevos modelos de marcas satelitales cada vez ofrecen más información y garantías, lo que permite una interpretación más precisa de los datos obtenidos.

Los estudios post-liberación nos permiten evaluar los efectos de la pesca en las tortugas marinas, para obtener información sobre su estado de salud en el momento de la captura así como datos de su supervivencia con el fin de desarrollar estrategias adecuadas de gestión y poder informar rigurosamente de cara a la toma de decisiones de gestión de las poblaciones (Snoddy and Southwood Williard, 2010). Las estimaciones de mortalidad se tienen en cuenta por las administraciones públicas a la hora de establecer reglamentos de pesca, y son factores clave en las decisiones relativas a la adopción de medidas tales como las vedas o las modificaciones de las artes (Putman et al., 2020).

El Consejo Nacional de Investigaciones de USA (Council and Conservation, 1990) recomendó incluir a los animales en estado comatoso en las estimaciones de mortalidad, dada la alta probabilidad de morir en el agua si se liberaban en esa condición. Además, y tal y como hemos evidenciado en el presente trabajo, aunque en nuestro caso algunas tortugas comatosas llegasen a recuperarse parcialmente en la cubierta del barco antes de su devolución al mar, ninguno de estos animales se pudo llegar a evidenciar que sobreviviera. Incluso si las tortugas no están comatosas o presentan lesiones evidentes, hemos visto que pueden llegar a morir tras la liberación como consecuencia de los daños sufridos entre los que se enmarcaría la DCS (Parga et al., 2020; Phillips et al., 2015; Snoddy and Southwood Williard, 2010). Esto es lo que se conoce como mortalidad secundaria.

Tal y como hemos venido viendo, además de las consecuencias negativas directas por la posible aspiración de agua de mar (Lunetta and Modell, 2005), las perturbaciones de los gases en sangre y el estado de hipoxia, las alteraciones del equilibrio ácido-base y del lactato, podrían resultar en la muerte

(Harms et al., 2003; Lutcavage and Lutz, 1997; Snoddy et al., 2009; Snoddy and Southwood Williard, 2010). La eliminación de la acidosis láctica en tortugas marinas tras la inmersión forzada podría llevar varias horas durante las cuales las tortugas pueden ser más susceptibles a riesgos adicionales incluyendo la depredación o a ser capturadas de nuevo (Lutz and Dunbar-Cooper, 1987). A esta condición de deterioro es a la que debemos sumar ahora la nueva entidad patológica que ponemos en evidencia a través de este trabajo recopilatorio.

Uno de los aspectos más relevantes de estos estudios tanto en el CR como a bordo de los buques pesqueros, es el retardo observado en la mortalidad en las tortugas marinas diagnosticadas con afectación de EG moderado a severo en ausencia de un tratamiento veterinario adecuado. Sin él, muchos de estos animales morirían después de su liberación, aunque la mayoría no mostrasen evidencias externas o signos clínicos durante los primeros minutos en cubierta. Son de hecho minutos lo que suele permanecer una tortuga capturada accidentalmente a bordo de un buque pesquero en condiciones normales. Esta enfermedad que hasta ahora ha pasado desapercibida para la comunidad científica, claramente sugiere que podría existir una subestimación en el cálculo de las tasas de mortalidad de tortugas marinas post interacción asociada a algunas pesquerías, con mayores efectos y mayor probabilidad de afección cuanto mayor sea la profundidad y duración de la inmersión como principales factores.

Además de la muerte, en aquellos animales supervivientes podrían producirse daños a largo plazo en varios órganos o tejidos. Estos daños subletales podrían suceder incluso en individuos con un nivel de embolismo de bajo grado (casos leves o moderados) que pudiesen sobrevivir al insulto inicial. Las lesiones en el sistema nervioso central, el corazón, los riñones o el intestino podrían además comprometer la supervivencia del animal a medio o largo plazo, así como su aptitud para desenvolverse en el medio, su capacidad para hacer frente a otras enfermedades, o para enfrentarse a nuevos desafíos fisiológicos. En el presente trabajo hemos podido evaluar los efectos agudos de la enfermedad, midiendo tasas de supervivencia en los afectados a un máximo de 30 días. Sin embargo, algunos animales murieron a partir del día 20 o incluso uno murió el día 28 post liberación. Así, animales que calificamos como “supervivientes” en nuestro estudio, no es descartable que pudieran morir días, semanas o meses después como consecuencia de los daños producidos por la enfermedad, tal y como por otro lado hemos podido evidenciar en algunos casos que han pasado por nuestro CR. Más allá de incrementar la supervivencia a corto plazo, el tratamiento HBOT también podría contribuir a minimizar las secuelas al permitir la recompresión inmediata de las burbujas de gas y re-oxigenar rápidamente los tejidos isquémicos.

G –RECOMENDACIONES FINALES DERIVADAS DEL CONOCIMIENTO GENERADO

Esta Tesis Doctoral supone el recopilatorio más completo de casos de EG y DCS en vertebrados buceadores, mostrando todas las etapas de la enfermedad (*in vivo* y *post mortem*) de la DCS, incluida la respuesta al tratamiento y aspectos claves del pronóstico y supervivencia en condiciones de campo, proporcionando nuevos elementos de discusión para el mejor conocimiento de la fisiología de buceo y minimización de los riesgos asociados a DCS en otras especies buceadoras en apnea (Piantadosi and Thalmann, 2004). Nuestro trabajo evidencia que la EG en las tortugas no se trata de una enfermedad ocasional. Aunque su incidencia pueda verse afectada por las condiciones particulares de cada pesquería, la EG se produjo en el 100% de los casos de las tortugas examinadas a bordo de arrastreros tanto en Brasil como en Italia y en casi el 60% de los casos que llegaron a nuestro CR varias horas tras la captura.

Dada la estacionalidad de las capturas accidentales, una de nuestras recomendaciones sería la de tratar de establecer medidas encaminadas a reducir el riesgo de interacción durante los meses de mayor incidencia mediante, por ejemplo, el establecimiento de vedas temporales, o de zonas de exclusión de la pesca en función de la profundidad. Adicionalmente, asumiendo que se va a producir un cierto número de interacciones, se pueden plantear medidas complementarias que minimicen los efectos de la descompresión y la inmersión forzada en los animales capturados, limitando el tiempo de arrastre o promocionando el uso de sistemas de exclusión de tortugas adaptados al tipo de pesquería durante los meses de mayor incidencia de capturas. El problema es que en muchos casos los intereses políticos y comerciales impiden la adopción de las medidas más adecuadas y necesarias que puedan garantizar la sostenibilidad de las poblaciones (Lewison et al., 2018). Si finalmente las tortugas son capturadas, el presente trabajo revela que podría ser aconsejable mantener las tortugas a bordo durante unas horas para llevarlas a puerto a pesar de un aparente buen estado clínico, con el fin de poderlas transportar a un centro de recuperación/rehabilitación dotado con medios de diagnóstico y tratamiento adecuados y específicos para gestionar pacientes con descompresión.

Por otro lado, hemos podido demostrar que el tratamiento HBOT aumenta la probabilidad de supervivencia por encima del 90% en los animales embolizados que llegan aún vivos al CR. Se consiguió una supervivencia del 94,15% de los casos afectados de EG procedentes de arrastre y 80% de los casos de EG procedentes del trasmallo. En caso de no disponer de cámara hiperbárica, el tratamiento con oxígeno normobárico podría ser también una muy buena alternativa para facilitar la eliminación del nitrógeno absorbido y agilizar la re-oxigenación, aunque en este caso los tiempos más largos de recuperación podrían conducir a una mayor cantidad de secuelas en los supervivientes. Como

referencia, tenemos el trabajo de la Universidad de Bari en Italia, aún por publicar. Aquí, la atención en un CR de casos confirmados de embolismo en tortugas procedentes de barcos arrastreros pero sin aplicar ningún tratamiento específico, resultó en una mortalidad aproximada del 10% de los casos ingresados vivos (un 80% de los totales) en los primeros 13 días. Sin embargo, algunos animales se liberaron antes (a los pocos días del ingreso), no pudiendo verificar su supervivencia a corto plazo (Franchini et al., 2021) (en revisión). Esta, en cualquier caso, es una mortalidad marcadamente superior a la observada en nuestro grupo (del 5,85%) para tortugas ingresadas en condiciones similares. En nuestro caso, una diferencia fundamental que podría explicar esta diferencia es que como norma general siempre aplicamos terapia hiperbárica o al menos oxígeno normobárico en todos los casos confirmados de EG. Las mortalidades de ambos CR son, en cualquier caso, muy inferiores a las mortalidades del 21,43% en Brasil y 32,26% en Italia observadas en los animales que se devolvieron directamente al agua a bordo de buques pesqueros. Más allá de la mortalidad aguda, a mayor tardanza en la resolución del cuadro embólico, mayor probabilidad de daños y secuelas en los pacientes. Así, bajo nuestro punto de vista, la oxigenoterapia e idealmente la terapia HBOT estaría recomendada en todos los casos y muy especialmente en los casos moderados y graves que rápidamente evolucionan a estuporosos, comatosos para terminar muriendo a las pocas horas. En este sentido, la colaboración y la coordinación con los pescadores es fundamental en la estrategia para maximizar el éxito y la agilidad en la entrega y para poder llegar a recuperar el mayor número posible de animales.

En el caso de los animales que estén conscientes y activos y no haya opción de revisarlas en un CR durante las siguientes 12-24h, estos podrían beneficiarse de ser liberados tan pronto como fuera posible (siempre que la condición del animal lo permita) con el fin de incrementar su supervivencia. En el caso de una tortuga con EG, cuanto más tiempo pase en superficie durante las primeras horas, mayor será la cantidad de burbujas de gas formadas en la sangre y otros tejidos (*gas-off*) y presuntamente mayores también los efectos fisiopatológicos asociados hasta, en caso de que el animal sobreviva el insulto inicial, llegar a la fase de eliminación donde las burbujas se empiecen a eliminar con la respiración. Es por ello por lo que sería recomendable el establecimiento de unas recomendaciones o guía de buenas prácticas de manejo de los animales capturados a bordo por parte de los pescadores teniendo en consideración esta nueva enfermedad. En principio entenderíamos que los animales se deberían trasladar a puerto únicamente si es posible llevar al animal en un corto período de tiempo a un CR para su evaluación y tratamiento. Durante este tiempo, hay que tratar de evitar su calentamiento en cubierta ya que podría agravar el proceso. A día de hoy no disponemos de la información precisa para determinar cuánto tiempo puede permanecer una tortuga en cubierta de forma segura, ni cuánto tiempo duran las fases de gas-off y eliminación (que posiblemente varíen en base a parámetros ambientales e individuales). Si la tortuga no está en condiciones para ser liberada

de inmediato al mar (está débil, no responde a estímulos, presenta alteraciones del movimiento, signos de ahogamiento como espuma o agua saliendo por boca o los orificios nasales...) y tampoco se puede llevar a un CR para su diagnóstico y tratamiento, el individuo debe ser mantenido en cubierta en un lugar fresco/ área sombreada para su recuperación, evitando el calentamiento y con la zona posterior ligeramente elevada durante el tiempo que sea necesario hasta que recobre cierta vitalidad. Si se observa una mejora en su condición reanudando la respiración normal y cierto movimiento de las aletas, se podría proceder a su devolución al mar. En cualquier caso, en nuestra experiencia el pronóstico en estos casos es muy malo.

Considerando el conjunto de resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral, podemos decir que el descubrimiento de esta nueva entidad patológica es especialmente trascendente en el marco global para la conservación de las tortugas marinas si además tenemos en cuenta que la interacción con pesca es la principal amenaza a nivel mundial para las poblaciones de tortugas (Wallace *et al.*, 2010). Se hace además necesario conocer la mortalidad real causada por las pesquerías para poder definir adecuadamente las estrategias de conservación de estas especies (Putman et al., 2020). El presente trabajo evidencia que esta enfermedad puede causar una serie de lesiones orgánicas y una mortalidad retardada cuando no es posible tratarla a tiempo (lo que supone la inmensa mayoría de las capturas pesqueras). Además, la enfermedad puede ocasionar diferentes daños y dejar secuelas a largo plazo en los supervivientes. Esto supone que muy probablemente las actuales estimaciones de mortalidad por pesca están subestimadas, lo que implicaría tener que reajustar también las cuotas y las medidas actuales de mitigación del impacto pesquero (reducción en el riesgo de interacción y de la mortalidad en caso de que suceda) en aras a la sostenibilidad o recuperación de las poblaciones de tortugas marinas a nivel mundial. Muchos de los animales que se liberan al mar tras la interacción en aparente buena condición, gracias a este estudio sabemos que podrían terminar muriendo poco tiempo después como consecuencia de la enfermedad en muchos casos, en coexistencia con otras alteraciones asociadas a la inmersión forzada.

E –BIBLIOGRAFÍA

Alessandro, L., and S. Antonello. 2010. An overview of loggerhead sea turtle (Caretta caretta) bycatch and technical mitigation measures in the Mediterranean Sea. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 20:141-161.

Álvarez de Quevedo, I., L. Cardona, A. De Haro, E. Pubill, and A. Aguilar. 2010. Sources of bycatch of loggerhead sea turtles in the western Mediterranean other than drifting longlines. *ICES Journal of Marine Science* 67:677-685.

Anderson, E.T., C.A. Harms, E.M. Stringer, and W.M. Cluse. 2011. Evaluation of hematology and serum biochemistry of cold-stunned green sea turtles (Chelonia mydas) in North Carolina, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 42:247-255.

Arthur, K.E., M.C. Boyle, and C.J. Limpus. 2008. Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (Chelonia mydas) life history. *Marine Ecology Progress Series* 362:303-311.

Barratt, D.M., P.G. Harch, and K. Van Meter. 2002. Decompression illness in divers: a review of the literature. *The Neurologist* 8:186-202.

Barthelemy, L., A. Belaud, and C. Chastel. 1981. A comparative study of oxygen toxicity in vertebrates. *Respiration physiology* 44:261-268.

Becker, K., E.-W. Kienecker, and P. Dick. 1990. A contribution to the scientific assessment of degenerative and regenerative processes in peripheral nerve fibers following axonotmesis under the systemic administration of vitamins B1, B6 and B12-light and electron microscopy findings in the saphenous nerve of the rabbit. *Neurochirurgia* 33:113-121.

Bentivegna, F., S. Hochscheid, and C. Minucci. 2003. Seasonal variability in voluntary dive duration of the Mediterranean loggerhead turtle, Caretta caretta. *Scientia Marina* 67:371-375.

Berghage, T., J. Woolley, and L. Keating. 1974. The probabilistic nature of decompression sickness.

Berghage, T.E., T.D. David, and C.V. Dyson. 1979. Species differences in decompression. *Undersea Biomedical Research* 6:1-13.

Berkson, H. 1966. Physiological adjustments to prolonged diving in the Pacific green turtle (Chelonia mydas agassizii). *Comparative Biochemistry and Physiology* 18:101-119.

Berkson, H. 1967. Physiological adjustments to deep diving in the pacific green turtle (Chelonia mydas agassizzii). *Comparative Biochemistry and Physiology* 21:507-524.

Bernaldo de Quirós, Y., O. Gonzales-Diaz, M. Arbelo, E. Sierra, S. Sacchini, and A. Fernández. 2012. Decompression versus decomposition: distribution, quantity and gas composition of bubbles in stranded marine mammals. . *Frontiers in Physiology* 3:1-19.

Bernaldo de Quirós, Y., O. González-Díaz, A. Møllerløkken, A.O. Brubakk, A. Hjelde, P. Saavedra, and A. Fernández. 2013a. Differentiation at autopsy between in vivo gas embolism and putrefaction using gas composition analysis. *International Journal of Legal Medicine* 127:437-445.

Bernaldo de Quirós, Y., Ó. González-Díaz, P. Saavedra, M. Arbelo, E. Sierra, S. Sacchini, P.D. Jepson, S. Mazzariol, G. Di Guardo, and A. Fernández. 2011. Methodology for in situ gas sampling, transport and laboratory analysis of gases from stranded cetaceans. *Scientific Reports* 1:193.

Bernaldo de Quirós, Y., M. Hartwick, D.S. Rotstein, M.M. Garner, A. Bogomolni, W. Greer, M.E. Niemeyer, G. Early, F. Wenzel, and M. Moore. 2018. Discrimination between bycatch and other causes of cetacean and pinniped stranding. *Diseases of aquatic organisms* 127:83-95.

Bernaldo de Quirós, Y., J.S. Seewald, S.P. Sylva, B. Greer, M. Niemeyer, A.L. Bogomolni, and M.J. Moore. 2013b. Compositional Discrimination of Decompression and Decomposition Gas Bubbles in Bycaught Seals and Dolphins. *PLoS ONE* 8:e83994.

Bert, P. 1870. Lecons sur la physiologie comparee de la respiration.

Bezjian, M., J.F. Wellehan Jr, M.T. Walsh, E. Anderson, and E. Jacobson. 2014. Management of wounds in a loggerhead sea turtle (Caretta caretta) caused by traumatic bycatch injury from the spines of a spotted eagle ray (Aetobatus narinari). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 45:428-432.

Bostrom, B.L., A. Fahlman, and D.R. Jones. 2008. Tracheal compression delays alveolar collapse during deep diving in marine mammals. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 161:298-305.

Bove, A.A. 1998. Risk of decompression sickness with patent foramen ovale. *Undersea and Hyperbaric Medicine* 25:175-178.

Burggren, W. 1977. The pulmonary circulation of the chelonian reptile: morphology, pharmacology and haemodynamics. *Journal of Comparative Physiology* 116:303-323.

Burggren, W., R. Filogonio, and T. Wang. 2020. Cardiovascular shunting in vertebrates: a practical integration of competing hypotheses. *Biological Reviews* 95:449-471.

Burggren, W.W., and G. Shelton. 1979. Gas-exchange and transport during intermittent breathing in chelonian reptiles. *Journal of Experimental Biology* 82:75-92.

Butler, B., and J. Katz. 1988. Vascular pressures and passage of gas emboli through the pulmonary circulation. *Undersea biomedical research* 15:203-209.

Butler, P., W. Milsom, and A. Woakes. 1984. Respiratory, cardiovascular and metabolic adjustments during steady state swimming in the green turtle, Chelonia mydas. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 154:167-174.

Butler, P.J. 2006. Aerobic dive limit. What is it and is it always used appropriately? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 145:1-6.

Butler, P.J., and D.R. Jones. 1997. Physiology of Diving Birds and Mammals. *Physiol. Rev.* 77:837-899.

Byles, R.A. 1988. Behavior and Ecology of Sea Turtles from Chesapeake Bay, Virginia. In College of William and Mary, Williamsburg, VA, USA.

Casale, P. 2011. Sea turtle by-catch in the Mediterranean. *Fish and Fisheries* 12:299-316.

Casale, P., G. Abbate, D. Freggi, N. Conte, M. Oliverio, and R. Argano. 2008. Foraging ecology of loggerhead sea turtles Caretta caretta in the central Mediterranean Sea: evidence for a relaxed life history model. *Marine Ecology Progress Series* 372:265-276.

Casale, P., G. Abitsi, M.P. Aboro, P.D. Agamboue, L. Agbode, N.L. Allela, D. Angueko, J.N.B.B. Nguema, F. Boussamba, and F. Cardiec. 2017. A first estimate of sea turtle bycatch in the industrial trawling fishery of Gabon. *Biodiversity and conservation* 26:2421-2433.

Casale, P., A.C. Broderick, J.A. Camiñas, L. Cardona, C. Carreras, A. Demetropoulos, W.J. Fuller, B.J. Godley, S. Hochscheid, and Y. Kaska. 2018. Mediterranean sea turtles: current knowledge and priorities for conservation and research. *Endangered species research* 36:229-267.

Casale, P., L. Laurent, and G. De Metrio. 2004. Incidental capture of marine turtles by the Italian trawl fishery in the north Adriatic Sea. *Biological conservation* 119:287-295.

Castellini, M. 2012. Life Under Water: Physiological Adaptations to Diving and Living at Sea. *Comprehensive Physiology* 2:1889-1919.

Chaloupka, M., D. Parker, and G. Balazs. 2004. Modelling post-release mortality of loggerhead sea turtles exposed to the Hawaii-based pelagic longline fishery. *Marine Ecology Progress Series* 280:285-293.

Chrisman, C.L., M. Walsh, J.C. Meeks, H. Zurawka, R. LaRock, L. Herbst, and J. Schumacher. 1997. Neurologic examination of sea turtles. *Journal-American Veterinary Medical Association* 211:1043-1047.

Clusa, M., C. Carreras, M. Pascual, S.J. Gaughran, S. Piovano, D. Avolio, G. Ollano, G. Fernández, J. Tomás, and J.A. Raga. 2016. Potential bycatch impact on distinct sea turtle populations is dependent on fishing ground rather than gear type in the Mediterranean Sea. *Marine Biology* 163:122.

Cook, M., J.L. Reneker, R.W. Nero, B.A. Stacy, and D.S. Hanisko. 2020. Effects of freezing on decomposition of sea turtle carcasses used for research studies. *Fishery Bulletin* 118:268-275.

Council, N.R., and C.o.S.T. Conservation. 1990. Decline of the sea turtles: causes and prevention. National Academies Press, Washington DC.

Crespo-Picazo, J.L., M. Parga, Y. Bernaldo de Quirós, D. Monteiro, V. Marco-Cabedo, C. Llopis-Belenguer, and D. García-Párraga. 2020. Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species. *Frontiers in Marine Science* 7:

Cross, S., and K. Jennings. 1994. Decompression sickness; Role of patent foramen ovale is limited. *British Medical Journal* 309:743-744.

Crowder, L.B., D.T. Crouse, S.S. Heppell, and T.H. Martin. 1994. Predicting the impact of turtle excluder devices on loggerhead sea turtle populations. *Ecological applications* 4:437-445.

D'Agostino, R., and E.S. Pearson. 1973. Tests for departure from normality. Empirical results for the distributions of b 2 and$\sqrt{}$ b. *Biometrika* 60:613-622.

D'Agostino, R.B. 1971. An omnibus test of normality for moderate and large size samples. *Biometrika* 58:341-348.

Davenport, J., J. Fraher, E. Fitzgerald, P. McLaughlin, T. Doyle, L. Harman, T. Cuffe, and P. Dockery. 2009. Ontogenetic changes in tracheal structure facilitate deep dives and cold water foraging in adult leatherback sea turtles. *Journal of Experimental Biology* 212:3440-3447.

De Quirós, Y.B., O. González-Díaz, A. Møllerløkken, A.O. Brubakk, A. Hjelde, P. Saavedra, and A. Fernández. 2013. Differentiation at autopsy between in vivo gas embolism and putrefaction using gas composition analysis. *International journal of legal medicine* 127:437-445.

Deem, S.L., T.M. Norton, M. Mitchell, A. Segars, A.R. Alleman, C. Cray, R.H. Poppenga, M. Dodd, and W.B. Karesh. 2009. Comparison of blood values in foraging, nesting, and stranded loggerhead turtles (Caretta caretta) along the coast of Georgia, USA. *Journal of Wildlife Diseases* 45:41-56.

Dennison, S., M.J. Moore, A. Fahlman, K. Moore, S. Sharp, C.T. Harry, J. Hoppe, M. Niemeyer, B. Lentell, and R.S. Wells. 2012. Bubbles in live-stranded dolphins. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279:1396-1404.

Dodge, K.L., J.M. Logan, and M.E. Lutcavage. 2011. Foraging ecology of leatherback sea turtles in the Western North Atlantic determined through multi-tissue stable isotope analyses. *Marine Biology* 158:2813-2824.

Dodge, Y. 2008. Spearman rank correlation coefficient. *The Concise Encyclopedia of Statistics. Springer, New York* 502-505.

Duncker, H.-R. 2004. Vertebrate lungs: structure, topography and mechanics: A comparative perspective of the progressive integration of respiratory system, locomotor apparatus and ontogenetic development. *Respiratory physiology & neurobiology* 144:111-124.

Eckert, S.A., K.L. Eckert, and T.H. Richardson. 1989. Proceedings of the Ninth Annual Workshop on Sea Turtle Conservation and Biology. In NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-23. Jekyll Island, Georgia. 306

Elsner, R.W., D.L. Franklin, and R.L. Van Critters. 1964. Cardiac output during diving in an unrestrained sea lion. *Nature* 202:809-810.

Epperly, S., L. Avens, L. Garrison, T. Henwood, W. Hoggard, J. Mitchell, J. Nance, J. Poffenberger, C. Sasso, E. Scott-Denton, and C. Yeung. 2002. Anaylis of sea turtle bycatch in the commercial shrimp fisheries of southeast US waters and the Gulf of Mexico. In Department of Commerce NOAA Technical Memorandum 88.

Epperly, S., L. Stokes, and S. Dick. 2004. Careful release protocols for sea turtle release with minimal injury. In US Department of Commerce, NOAA fisheries, Miami, Florida, USA. 42.

Epperly, S.P. 2002. 13 Fisheries-Related Mortality and Turtle Excluder Devices (TEDs). *The biology of sea turtles* 2:339.

Fahlman, A. 2017. Allometric scaling of decompression sickness risk in terrestrial mammals; cardiac output explains risk of decompression sickness. *Scientific Reports* 7:1-9.

Fahlman, A., J.L. Crespo-Picazo, B. Sterba-Boatwright, B.A. Stacy, and D. Garcia-Parraga. 2017a. Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in trawls and gillnets. *Scientific reports* 7:1-7.

Fahlman, A., S.K. Hooker, A. Olszowka, B.L. Bostrom, and D.R. Jones. 2009. Estimating the effect of lung collapse and pulmonary shunt on gas exchange during breath-hold diving: the Scholander and Kooyman legacy *Respiratory Physiology & Neurobiology* 165:28-39.

Fahlman, A., F. Jensen, P.L. Tyack, and R. Wells. 2018. Modeling tissue and blood gas kinetics in coastal and offshore common Bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Frontiers Physiology* 9:1-13.

Fahlman, A., M.J. Moore, and D. Garcia-Parraga. 2017b. Respiratory function and mechanics in pinnipeds and cetaceans. *Journal of Experimental Biology* 220:1761-1773.

Fahlman, A., A. Olszowka, B. Bostrom, and D.R. Jones. 2006. Deep diving mammals: Dive behavior and circulatory adjustments contribute to bends avoidance. *Respiratory Physiology and Neurobiology* 153:66-77.

Fahlman, A., A. Schmidt, D.R. Jones, B.L. Bostrom, and Y. Handrich. 2007. To what extent does N_2 limit dive performance in king penguins? *Journal of Experimental Biology* 210:3344-3355.

Falke, K.J., R.D. Hill, J. Qvist, R.C. Schneider, M. Guppy, G.C. Liggins, P.W. Hochachka, R.E. Elliot, and W.M. Zapol. 1985. Seal lung collapse during free diving: evidence from arterial nitrogen tensions. *Science* 229:556-557.

Farhi, L.E. 1967. Elimination of inert gas by the lung. *Respiration Physiology* 3:1-11.

Farhi, L.E., and T. Yokoyama. 1967. Effects of ventilation-perfusion inequality on elimination of inert gases. *Respiration Physiology* 3:12-20.

Fernández, A., M. Arbelo, and V. Martin. 2013. Whales: No mass stranding since sonar ban. *Nature* 487:317.

Fernandez, A., J.F. Edwards, F. Rodriguez, A.E. de los Monteros, P. Herraez, P. Castro, J.R. Jaber, V. Martin, and M. Arbelo. 2005. "Gas and fat embolic syndrome" involving a mass stranding of beaked whales (Family Ziphiidae) exposed to anthropogenic sonar signals. *Veterinary Pathology* 42:446-457.

Fernández, A., E. Sierra, J. Díaz-Delgado, S. Sacchini, Y. Sánchez-Paz, C. Suárez-Santana, M. Arregui, M. Arbelo, and Y.B. de Quirós. 2017. Deadly acute Decompression Sickness in Risso's dolphins. *Scientific Reports* 7:1-9.

Ferrigno, M., and C.E.G. Lundgren. 2003. Breath-Hold Diving. In Physiology and Medicine of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 153-180.

Finkbeiner, E.M., B.P. Wallace, J.E. Moore, R.L. Lewison, L.B. Crowder, and A.J. Read. 2011. Cumulative estimates of sea turtle bycatch and mortality in USA fisheries between 1990 and 2007. *Biological Conservation* 144:2719-2727.

Fix, S.M., M.A. Borden, and P.A. Dayton. 2015. Therapeutic gas delivery via microbubbles and liposomes. *Journal of Controlled Release* 209:139-149.

Flint, M., J. Patterson-Kane, P. Mills, and C. Limpus. 2009. A veterinarian's guide for sea turtle post mortem examination and histological investigation. In The University of Queensland, Brisbane, Australia.

Fossette, S., A.C. Gleiss, A.E. Myers, S. Garner, N. Liebsch, N.M. Whitney, G.C. Hays, R.P. Wilson, and M.E. Lutcavage. 2010. Behaviour and buoyancy regulation in the deepest-diving reptile: the leatherback turtle. *Journal of Experimental Biology* 213:4074-4083.

Franchini, D., C. Valastro, S. Ciccarelli, P. Trerotoli, S. Paci, F. Caprio, A. Lucchetti, and A. Di Bello. 2021. Gas Embolism Assessment in Sea Turtles: Predictors of Mortality for the Deadliest Pathology related to Trawling. *Pre-Print*

Francis, T.J.R., and S.J. Mitchell. 2003. Manifestations of decompression disorders. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 578-599.

Francis, T.J.R., and J.M. Simon. 2003. Pathology of Decompression Sickness. In Bennett and Elliott's Physiology and Medicing of Diving. A.O. Brubakk, and T.S. Neuman, editors. Saunders, 530-556.

García-Párraga, D., and J.L. Crespo-Picazo. 2019. Decompression Medicine in Aquatic Species (Fish and Sea Turtle Focus). In Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9. Elsevier, 345-355.

García-Párraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y. Bernaldo de Quirós, V. Cervera, L. Martí-Bonmati, J. Díaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernández. 2014. Decompression Sickness ("the bends") in Sea Turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 111:191-205.

Garcia-Parraga, D., J.L. Crespo-Picazo, Y.B. de Quiros, V. Cervera, L. Marti-Bonmati, J. Diaz-Delgado, M. Arbelo, M.J. Moore, P.D. Jepson, and A. Fernandez. 2014. Decompression sickness ('the bends') in sea turtles. *Dis Aquat Organ* 111:191-205.

García-Párraga, D., T. Lorenzo, T. Wang, J.-L. Ortiz, J. Ortega, J.-L. Crespo-Picazo, J. Cortijo, and A. Fahlman. 2018a. Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Journal of Experimental Biology* 221:jeb179820.

García-Párraga, D., M. Moore, and A. Fahlman. 2018b. Pulmonary ventilation– perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. *Proceedings Royal Society B* 285:20180482.

Garcia-Parraga, D., A.L.S. Valente, B.A. Stacy, and J. Wyneken. 2017. Cardiovascular System. In Sea Turtle Health and Rehabilitation. C.A. Manire, T.M. Norton, B.A. Stacy, C.A. Harms, and C.J. Innis, editors. 295-320.

Gardette, B. 1979. Correlation between decompression sickness and circulating bubbles in 232 divers. *Undersea biomedical research* 6:99-107.

Gawthrope, I.C., M. Summers, D.J. Macey, and D.A. Playford. 2015. An observation of venous gas emboli in divers and susceptibility to decompression sickness. *Diving Hyperb Med* 45:25-28.

Germonpre, P., P. Dendale, P. Unger, and C. Balestra. 1998. Patent foramen ovale and decompression sickness in sports divers. *Journal of Applied Physiology* 84:1622-1626.

Germonpré, P., V. Papadopoulou, W. Hemelryck, G. Obeid, P. Lafère, R.J. Eckersley, M.-X. Tang, and C. Balestra. 2014. The use of portable 2D echocardiography and 'frame-based'bubble counting as a tool to evaluate diving decompression stress.

Gerosa, G., and M. Aureggi. 2005. Guía para Pescadores sobre el Manejo de las Tortugas Marinas Manual del Profesor. *Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Plan de Acción del Mediterráneo Centro de Actividad Regional para Zonas Especialmente Protegidas. CHELON-Programa de Investigación y Conservación de las Tortugas Marinas. Túnez Cedex–Tunicia. 50p*

Gerosa, G., and P. Casale. 1999. Interaction of marine turtles with fisheries in the Mediterranean. Mediterranean action plan. UNEP; Regional Activity Centre for Specially Protected Areas (RAC/SPA), Tunis, Tunisia.

Gerth, W.A., V.L. Ruterbusch, and E.T. Long. 2007. The influence of thermal exposure on diver susceptibility to decompression sickness. In NavSea, Panama City, FL.

Giammona, S.T., and J.H. Modell. 1967. Drowning by total immersion: effects on pulmonary surfactant of distilled water, isotonic saline, and sea water. *American Journal of Diseases of Children* 114:612-616.

Gilman, E., G. Bianchi, and C. Attwood. 2009. Guidelines to reduce sea turtle mortality in fishing operations. FAO,

Gilman, E., J. Gearhart, B. Price, S. Eckert, H. Milliken, J. Wang, Y. Swimmer, D. Shiode, O. Abe, S.H. Peckham, M. Chaloupka, M. Hall, J. Mangel, J. Alfaro-Shigueto, P. Dalzell, and A. Ishizaki. 2010. Mitigating sea turtle by-catch in coastal passive net fisheries. *Fish and Fisheries* 11:57-88.

Gilman, E., T. Mouth-Poulsen, and G. Bianchi. 2007. Review of measures taken by inter-governmental organizations to address problematic sea turtle and seabird interactions in marine capture fisheries. In F.a.a.o.o.t.U. Nations, editor FAO Fisheries Circular, Rome, Italy.

Gredzens, C., and D.J. Shaver. 2020. Satellite tracking can inform population-level dispersal to foraging grounds of post-nesting Kemp's ridley sea turtles. *Frontiers in Marine Science*

Greer, A.E., J.D. LAZELL, and R.M. WRIGHT. 1973. Anatomical evidence for a counter-current heat exchanger in the leatherback turtle (Dermochelys coriacea). *Nature* 244:181-181.

Gröber, U., K. Kisters, and J. Schmidt. 2013. Neuroenhancement with vitamin B12—underestimated neurological significance. *Nutrients* 5:5031-5045.

Hall, M.A., D.L. Alverson, and K.I. Metuzals. 2000. By-catch: problems and solutions. *Marine pollution bulletin* 41:204-219.

Hamann, M., M.H. Godfrey, J.A. Seminoff, K. Arthur, P.C.R. Barata, K.A. Bjorndal, A.B. Bolten, A.C. Broderick, L.M. Campbell, C. Carreras, P. Casale, M. Chaloupka, S.K.F. Chan, M.S. Coyne, L.B. Crowder, C.E. Diez, P.H. Dutton, S.P. Epperly, N.N. FitzSimmons, A. Formia, M. Girondot, G.C.

Hays, I.S. Cheng, Y. Kaska, R. Lewison, J.A. Mortimer, W.J. Nichols, R.D. Reina, K. Shanker, J.R. Spotila, J. Tomás, B.P. Wallace, T.M. Work, J. Zbinden, and B.J. Godley. 2010. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. *Endangered Species Research* 11:245-269.

Harms, C., A. Valente, B. Stacy, and J. Wyneken. 2017. Nervous System. In Sea Turtle Health & Rehabilitation. C. Manire, T. Norton, B. Stacey, C. Innis, and C. Harms, editors. J.Ross Pub, 417-438.

Harms, C.A., S.M. Boylan, B.A. Stacy, J.F. Beasley, D. García-Párraga, and M.H. Godfrey. 2020. Gas embolism and massive blunt force trauma to sea turtles entrained in hopper dredges in North and South Carolina, USA. *Diseases of Aquatic Organisms* 142:189-196.

Harms, C.A., K.M. Mallo, P.M. Ross, and A. Segars. 2003. Venous blood gases and lactates of wild loggerhead sea turtles (Caretta caretta) following two capture techniques. *Journal of Wildlife Diseases* 39:366-374.

Harrah, J.D., P.S. O'Boyle, and C.A. Piantadosi. 2008. Underutilization of echocardiography for patent foramen ovale in divers with serious decompression sickness. *Undersea & Hyperbaric Medicine* 35:207-211.

Harvey, E.N. 1945. Decompression sickness and bubble formation in blood and tissues. *Bull. N.Y.Acad. Med.* 21:505-536.

Henwood, T.A. 1987. Movements and seasonal changes in loggerhead turtle Caretta caretta aggregations in the vicinity of Cape Canaveral, Florida (1978–84). *Biological Conservation* 40:191-202.

Henwood, T.A., and W.E. Stuntz. 1987. Analysis of sea turtles captures and mortalities during commercial shrimp trawling. *Fishery Bulletin* 85:813-817.

Hicks, J., and S. Comeau. 1994. Vagal regulation of intracardiac shunting in the turtle *Pseudemys scripta*. *Journal of Experimental Biology* 186:109-126.

Hicks, J.W., A. Ishimatsui, S. Molloi, A. Erskin, and N. Heisler. 1996. The mechanism of cardiac shunting in reptiles: A new synthesis. *Journal of Experimental Biology* 199:1435-1446.

Hicks, J.W., and T. Wang. 1996. Functional role of cardiac shunts in reptiles. *Journal of Experimental Zoology* 275:204-216.

Hochscheid, S., F. Bentivegna, M.N. Bradai, and G.C. Hays. 2007. Overwintering behaviour in sea turtles: dormancy is optional. *Marine Ecology Progress Series* 340:287-298.

Hochscheid, S., F. Bentivegna, and G.C. Hays. 2005. First records of dive durations for a hibernating sea turtle. *Biology letters* 1:82-86.

Hodanbosi, M., B. Sterba-Boatwright, and A. Fahlman. 2016. Updating a gas dynamics model using estimates for California sea lions (*Zalophus californianus*). *Respiratory Physiology & Neurobiology* 234:1-8.

Hooker, S.K., R.W. Baird, and A. Fahlman. 2009. Could beaked whales get the bends? Effect of diving behaviour and physiology on modelled gas exchange for three species: *Ziphius cavirostris*, *Mesoplodon densirostris* and *Hyperoodon ampullatus*. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 167:235-246.

Hooker, S.K., and A. Fahlman. 2015. Pressure regulation. In Marine Mammal Physiology: Requisites for Ocean Living. M. Castellini, and J. Mellish, editors. CRC Press, 69-92.

Hooker, S.K., P. Miller, M.P. Johnson, O.P. Cox, and I.L. Boyd. 2005. Ascent exhalations of Antarctic fur seals: a behavioural adaptation for breath-hold diving? *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 272:355-363.

Hoopes, L.A., A.M. Landry Jr, and E.K. Stabenau. 2000. Physiological effects of capturing Kemp's ridley sea turtles, Lepidochelys kempii, in entanglement nets. *Canadian Journal of Zoology* 78:1941-1947.

Houghton, J.D.R., T.K. Doyle, J. Davenport, R.P. Wilson, and G.C. Hays. 2008. The role of infrequent and extraordinary deep dives in leatherback turtles (Dermochelys coriacea). *Journal of Experimental Biology* 211:2566-2575.

Huberty, C.J. 2005. Discriminant analysis. *Encyclopedia of statistics in behavioral science*

Innis, C., C. Merigo, K. Dodge, M. Tlusty, M. Dodge, B. Sharp, A. Myers, A. McIntosh, D. Wunn, and C. Perkins. 2010. Health evaluation of leatherback turtles (Dermochelys coriacea) in the northwestern Atlantic during direct capture and fisheries gear disentanglement. *Chelonian Conservation and Biology* 9:205-222.

Innis, C.J., C. Merigo, J.M. Cavin, K. Hunt, K.L. Dodge, and M. Lutcavage. 2014. Serial assessment of the physiological status of leatherback turtles (Dermochelys coriacea) during direct capture events in the northwestern Atlantic Ocean: comparison of post-capture and pre-release data. *Conservation physiology* 2:

James, M.C., J. Davenport, and G.C. Hays. 2006. Expanded thermal niche for a diving vertebrate: a leatherback turtle diving into near-freezing water. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 335:221-226.

James, P.B., and K. Jain. 2017. Decompression sickness. In Textbook of Hyperbaric Medicine. Springer, 101-120.

Jepson, P.D., M. Arbelo, R. Deaville, I.A.P. Patterson, P. Castro, J.R. Baker, E. Degollada, H.M. Ross, P. Herraez, A.M. Pocknell, F. Rodriguez, F.E. Howie, A. Espinosa, R.J. Reid, J.R. Jaber, V. Martin, A.A. Cunningham, and A. Fernandez. 2003. Gas-bubble lesions in stranded cetaceans - Was sonar responsible for a spate of whale deaths after an Atlantic military exercise? *Nature* 425:575-576.

Jepson, P.D., R. Deaville, I.A.P. Patterson, A.M. Pocknell, H.M. Ross, J.R. Baker, F.E. Howie, R.J. Reid, A. Colloff, and A.A. Cunningham. 2005. Acute and chronic gas bubble lesions in cetaceans stranded in the United Kingdom. *Veterinary Pathology* 42:291-305.

Kear, B.P., and M.S. Lee. 2006. A primitive protostegid from Australia and early sea turtle evolution. *Biology letters* 2:116-119.

Kennedy, A., C. Innis, and W. Rumbeiha. 2012. Determination of glomerular filtration rate in juvenile Kemp's ridley turtles (Lepidochelys kempii) using iohexol clearance, with preliminary comparison of clinically healthy turtles vs. those with renal disease. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 22:25-29.

Kleiber, P., and C. Boggs. 2000. Workshop on reducing sea turtle takes in longline fisheries, Miami, August 31-September 1, 1999.

Knight, B. 1996. Dysbarism and barotrauma. In Forensic Pathology. Arnold, editor London.

Kooyman, G.L. 1973. Respiratory adaptations in marine mammals. *American Zoologist* 13:457-468.

Kooyman, G.L. 1989. Diverse Divers: Physiology and Behavior. Springer-Verlag, Berlin. 200 pp.

Kooyman, G.L., J.P. Schroeder, D.M. Denison, D.D. Hammond, J.J. Wright, and W.P. Bergman. 1972. Blood nitrogen tensions of seals during simulated deep dives. *American Journal of Physiology* 223:1016-1020.

Kooyman, G.L., and E.E. Sinnett. 1982. Pulmonary shunts in Harbor seals and sea lions during simulated dives to depth. *Physiological Zoology* 55:105-111.

Kruskal, W.H., and W.A. Wallis. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association* 47:583-621.

Levett, D., and I. Millar. 2008. Bubble trouble: a review of diving physiology and disease. *Postgraduate medical journal* 84:571-578.

Lewison, R., B. Wallace, J. Alfaro-Shigueto, J. Mangel, S. Maxwell, and E. Hazen. 2013. Fisheries bycatch of marine turtles: lessons learned from decades of research and conservation. *The biology of sea turtles* 3:329-351.

Lewison, R.L., and L.B. Crowder. 2007. Putting longline bycatch of sea turtles into perspective. *Conservation biology* 21:79-86.

Lewison, R.L., L.B. Crowder, A.J. Read, and S.A. Freeman. 2004a. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. *Trends in Ecology & Evolution* 19:598-604.

Lewison, R.L., L.B. Crowder, B.P. Wallace, J.E. Moore, T. Cox, R. Zydelis, S. McDonald, A. DiMatteo, D.C. Dunn, and C.Y. Kot. 2014. Global patterns of marine mammal, seabird, and sea turtle bycatch reveal taxa-specific and cumulative megafauna hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:5271-5276.

Lewison, R.L., S.A. Freeman, and L.B. Crowder. 2004b. Quantifying the effects of fisheries on threatened species: the impact of pelagic longlines on loggerhead and leatherback sea turtles. *Ecology Letters* 7:221-231.

Lewison, R.L., A.F. Johnson, and G.M. Verutes. 2018. Embracing complexity and complexity-awareness in marine megafauna conservation and research. *Frontiers in Marine Science* 5:207.

Lillo, R.S., J.F. Himm, P.K. Weathersby, D.J. Temple, K.A. Gault, and D.M. Dromsky. 2002. Using animal data to improve prediction of human decompression risk following air-saturation dives. *Journal of Applied Physiology* 93:216-226.

Lillywhite, H.B., and J.A. Donald. 1989. Pulmonary blood-flow regulation in an aquatic snake. *Science* 245:293-295.

Limpus, C.J., and D.G. Walter. 1980. The growth of immature green turtles (Chelonia mydas) under natural conditions. *Herpetologica* 162-165.

Litscher, G. 2010. Ten Years Evidence-Based High-Tech Acupuncture Part 3: A Short Review of Animal Experiments. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 7:151-155.

Lonati, G.L., A.J. Westgate, D.A. Pabst, and H.N. Koopman. 2015. Nitrogen solubility in odontocete blubber and mandibular fats in relation to lipid composition. *Journal of Experimental Biology* 218:2620-2630.

Lucchetti, A., G. Bargione, A. Petetta, C. Vasapollo, and M. Virgili. 2019. Reducing sea turtle bycatch in the Mediterranean mixed demersal fisheries. *Frontiers in Marine Science* 6:387.

Lunetta, P., and J.H. Modell. 2005. Macroscopical, microscopical, and laboratory findings in drowning victims. In Forensic pathology reviews. Springer, 3-77.

Lutcavage, M.E., P.G. BUsHNELL, and D.R. JoNEs. 1992. Oxygen stores and aerobic metabolism in the leatherback sea turtle. *Canadian Journal of Zoology* 70:348-351.

Lutcavage, M.E., and P.E. Lutz. 1997. Diving physiology. In The biology of sea turtles. P.L. Lutz, and J.A. Musick, editors. CRC Press, New York.

Lutcavage, M.E., and P.L. Lutz. 1991. Voluntary diving metabolism and ventilation in the loggerhead sea turtle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 147:287-296.

Lutcavage, M.E., P.L. Lutz, and H. Baier. 1989. Respiratory mechanics of the loggerhead sea turtle, Caretta-caretta. *Respiration Physiology* 76:13-24.

Lutz, P., J. LaManna, M. Adams, and M. Rosenthal. 1980. Cerebral resistance to anoxia in the marine turtle. *Respiration physiology* 41:241-251.

Lutz, P.L., and B.B. Bentley. 1985a. Physiology of Diving in the Sea Turtle. *Copeia* 1985:671-679.

Lutz, P.L., and T.B. Bentley. 1985b. Respiratory physiology of diving in the sea turtle. *Copeia* 671-679.

Lutz, P.L., A. Bergey, and M. Bergey. 1989. Effects of Temperature on Gas Exchange and Acid-Base Balance in the Sea Turtle Caretta Caretta at Rest and During Routine Activity. *Journal of Experimental Biology* 144:155-169.

Lutz, P.L., and A. Dunbar-Cooper. 1987. Variations in the blood-chemistry of the loggerhead sea-turtle, *Caretta caretta*. *Fishery Bulletin* 85:37-43.

Mahon, R.T., and D.P. Regis. 2014a. Decompression and decompression sickness. *Compr Physiol* 4:1157-1175.

Mahon, R.T., and D.P. Regis. 2014b. Decompression and decompression sickness. *Comprehensive Physiology* 4:1157-1175.

Malte, C.L., H. Malte, and T. Wang. 2016a. The long road to steady state in gas exchange: metabolic and ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in Cuvier's dwarf caiman. *The Journal of Experimental Biology* 219:3810-3821.

Malte, C.L., H. Malte, and T. Wang. 2016b. Periodic ventilation: Consequences for the bodily CO2 stores and gas exchange efficiency. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 231:63-74.

Mangel, J.C., J. Alfaro-Shigueto, M.J. Witt, P.H. Dutton, J.A. Seminoff, and B.J. Godley. 2011. Post-capture movements of loggerhead turtles in the southeastern Pacific Ocean assessed by satellite tracking. *Marine Ecology Progress Series* 433:261-U307.

Mann, H.B., and D.R. Whitney. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics* 50-60.

Mathiesen, Á.M. 2015. The state of world fisheries and aquaculture 2012. In Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Maxwell, S.M., M.J. Witt, G. Abitsi, M.P. Aboro, P.D. Agamboue, G.M. Asseko, F. Boussamba, E. Chartrain, M.S. Gnandji, and B.D.K. Mabert. 2018. Sea turtles and survivability in demersal trawl fisheries: Do comatose olive ridley sea turtles survive post-release? *Animal biotelemetry* 6:1-8.

McDonald, B.I., and P.J. Ponganis. 2012. Lung collapse in the diving sea lion: hold the nitrogen and save the oxygen. *Biology Letters* 8:1047-1049.

Meylan, A. 1988. Spongivory in hawksbill turtles: a diet of glass. *Science* 239:393-395.

Milsom, W.K., B.L. Langille, and D.R. Jones. 1977. Vagal control of pulmonary vascular resistance in the turtle Chrysemys scripta. *Can J Zool* 55:359-367.

Modell, J.H., H.W. Calderwood, B.C. Ruiz, J.B. Downs, and R. Chapman. 1974. Effects of ventilatory patterns on arterial oxygenation after near-drowning in sea water. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 40:376-384.

Modell, J.H., F. Moya, E.J. Newby, B.C. Ruiz, and A.V. Showers. 1967. The effects of fluid volume in seawater drowning. *Annals of internal medicine* 67:68-80.

Møllerløkken, A., S.L. Blogg, D.J. Doolette, R.Y. Nishi, and N.W. Pollock. 2016. Consensus guidelines for the use of ultrasound for diving research. *Diving and hyperbaric medicine* 46:26-32.

Monteiro, D., S. Estima, and E. Secchi. 2013. Captura incidental de tartarugas marinhas na pescaria de arrasto de parelha no litoral do Rio Grande do Sul–Brasil. *VI Jornada y VII Reunión de Conservación e Investigación de Tortugas Marinas en el Atlántico Sur Occidental (ASO)*

Moon, D.-Y. 1992. The responses of sea turtles to temperature changes: Behavior, metabolism, and thyroid hormones. In Texas A&M University.

Moon, D.Y., D.S. MacKenzie, and D.W. Owens. 1997. Simulated hibernation of sea turtles in the laboratory: I. Feeding, breathing frequency, blood pH, and blood gases. *Journal of Experimental Zoology* 278:372-380.

Moore, M.J., A.L. Bogomolni, S.E. Dennison, G. Early, M.M. Garner, B.A. Hayward, B.J. Lentell, and D.S. Rotstein. 2009. Gas Bubbles in Seals, Dolphins, and Porpoises Entangled and Drowned at Depth in Gillnets. *Veterinary Pathology* 46:536-547.

Moore, M.J., and G.A. Early. 2004. Cumulative sperm whale bone damage and the bends. *Science* 306:2215-2215.

Murphy, C., D. Kelliher, and J. Davenport. 2012. Shape and material characteristics of the trachea in the leatherback sea turtle promote progressive collapse and reinflation during dives. *Journal of Experimental Biology* 215:3064-3071.

Nemenyi, P. 1963. Distribution-free mulitple comparisons PhD thesis Princeton University Princeton. In NJ.

Neuman, T., D. Hall, and J.P. Linaweaver. 1976. Gas phase separation during decompression in man: ultrasound monitoring. *Undersea biomedical research* 3:121-130.

Norton, T.M. 2005. Chelonian emergency and critical care. In Seminars in avian and exotic pet medicine. Elsevier, 106-130.

Okada, K., H. Tanaka, K. Temporin, M. Okamoto, Y. Kuroda, H. Moritomo, T. Murase, and H. Yoshikawa. 2010. Methylcobalamin increases Erk1/2 and Akt activities through the methylation cycle and promotes nerve regeneration in a rat sciatic nerve injury model. *Experimental neurology* 222:191-203.

Okuyama, J., M. Shiozawa, and D. Shiode. 2020. Heart rate and cardiac response to exercise during voluntary dives in captive sea turtles (Cheloniidae). *Biology open* 9:

Omeyer, L.C., W.J. Fuller, B.J. Godley, R.T. Snape, and A.C. Broderick. 2019. The effect of biologging systems on reproduction, growth and survival of adult sea turtles. *Movement ecology* 7:1-12.

Paladino, F.V., M.P. O'Connor, and J.R. Spotila. 1990. Metabolism of leatherback turtles, gigantothermy, and thermoregulation of dinosaurs. *Nature* 344:858-860.

Papadopoulou, V., S. Evgenidis, R.J. Eckersley, T. Mesimeris, C. Balestra, M. Kostoglou, M.-X. Tang, and T.D. Karapantsios. 2015. Decompression induced bubble dynamics on ex vivo fat and muscle

tissue surfaces with a new experimental set up. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 129:121-129.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Garcia-Parraga, B. Stacy, and C. Harms. 2017. Fisheries and sea turtles. In Sea Turtle Health and Rehabilitation C. Manire, TM Norton, BA Stacy, CJ Innis & CA Harms editor J Ross Publishing, Plantation, FL, USA. 859-897.

Parga, M., J. Crespo-Picazo, D. Monteiro, D. García-Párraga, J. Hernandez, Y. Swimmer, S. Paz, and N. Stacy. 2020. On-board study of gas embolism in marine turtles caught in bottom trawl fisheries in the Atlantic Ocean. *Scientific Reports* 10:1-9.

Paulev, P. 1965. Decompression sickness following repeated breath-hold dives. *Journal of Applied Physiology* 20:1028-&.

Pearson, K. 1900. X. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 50:157-175.

Perry, S., and H.-R. Duncker. 1978. Lung architecture, volume and static mechanics in five species of lizards. *Respiration physiology* 34:61-81.

Phillips, B.E., S.A. Cannizzo, M.H. Godfrey, B.A. Stacy, and C.A. Harms. 2015. Exertional myopathy in a juvenile green sea turtle (Chelonia mydas) entangled in a large mesh gillnet. *Case Reports in Veterinary Medicine* 2015:

Piantadosi, C.A., and E.D. Thalmann. 2004. Pathology: whales, sonar and decompression sickness. *Nature* 428:1 p following 716; discussion 712 p following 716.

Picazo, J.L.C., V.M. Cabedo, and D.G. Parraga. 2020. El desconocido caso de descompresión de las tortugas marinas. *Mediterráneo económico* 119-142.

Plattner, T., M.J. Thali, K. Yen, M. Sonnenschein, C. Stoupis, P. Vock, K. Zwygart-Brugger, T. Kilchor, and R. Dirnhofer. 2003. Virtopsy-postmortem multislice computed tomography (MSCT) and magnetic resonance imaging (MRI) in a fatal scuba diving incident. *Journal of forensic sciences* 48:1347-1355.

Plotkin, P., P. Lutz, J. Musick, and J. Wyneken. 2002. Adult migrations and habitat use. *The biology of sea turtles* 2:225-241.

Poiner, I.R., and A.N.M. Harris. 1996. Incidental capture, direct mortality and delayed mortality of sea turtles in Australia's Northern Prawn Fishery. *Marine Biology* 125:813-825.

Pollock, N.W. 2007. Use of ultrasound in decompression research. *Diving and Hyperbaric Medicine - South Pacific Underwater Medicine Society* 37:68.

Polovina, J.J., G.H. Balazs, E.A. Howell, D.M. Parker, M.P. Seki, and P.H. Dutton. 2004. Forage and migration habitat of loggerhead (*Caretta caretta*) and olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) sea turtles in the central North Pacific Ocean. *Fisheries Oceanography* 13:36-51.

Polovina, J.J., E. Howell, D.M. Parker, and G.H. Balazs. 2003. Dive-depth distribution of loggerhead (Caretta caretta) and olive ridley (Lepidochelys olivacea) sea turtles in the central North Pacific: might deep longline sets catch fewer turtles? *Fishery Bulletin* 101:189-193.

Ponganis, P.J., G.L. Kooyman, and S. Ridgway. 2003. Comparative Diving Physiology. In Bennett and Elliott's physiology and medicine of diving. A. Brubakk, T.S. Neuman, P.B. Bennett, and D.H. Elliott, editors. Saunders, New York. 211-226.

Ponganis, P.J., G.L. Kooyman, R. Van Dam, and Y. Le Maho. 1999. Physiological responses of king penguins during simulated diving to 136 m depth. *Journal of Experimental Biology* 202:2819-2822.

Portugues, C., J.L. Crespo-Picazo, D. García-Párraga, J. Altimiras, T. Lorenzo, A. Borque-Espinosa, and A. Fahlman. 2018. Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Conservation physiology* 6:cox074.

Putman, N.F., J. Hawkins, and B.J. Gallaway. 2020. Managing fisheries in a world with more sea turtles. *Proceedings of the Royal Society B* 287:20200220.

Ricciardi, M., D. Franchini, C. Valastro, S. Ciccarelli, F. Caprio, A. Eyad Assad, and A. Di Bello. 2019. Multidetector computed tomographic anatomy of the lungs in the loggerhead sea turtle (Caretta caretta). *The Anatomical Record* 302:1658-1665.

Ridgway, S., and R. Harrison. 1986. Diving dolphins. *Research on dolphins* 33-58.

Ridgway, S.H., and R. Howard. 1979. Dolphin lung collapse and intramuscular circulation during free diving: evidence from nitrogen washout. *Science* 206:1182-1183.

Ridgway, S.H., B.L. Scronce, and J.W. Kanwisher. 1969. Respiration and Deep Diving in the Bottlenose Porpoise. *Science* 166:1651-1654.

Riess, J.G. 2005. Understanding the fundamentals of perfluorocarbons and perfluorocarbon emulsions relevant to in vivo oxygen delivery. *Artificial cells, blood substitutes, and biotechnology* 33:47-63.

Robinson, N.J., and F.V. Paladino. 2015. Diving Behavior and Physiology of the Leatherback Turtle. *The Leatherback Turtle* 21-31.

Robinson, N.J., K.R. Stewart, P.H. Dutton, R. Nel, F.V. Paladino, and P.S. Tomillo. 2017. Standardising curved carapace length measurements for leatherback turtles, Dermochelys coriacea, to investigate global patterns in body size. *Herpetological Journal* 27:

Robinson, W.R., R.H. Peters, and J. Zimmermann. 1983. The effects of body size and temperature on metabolic rate of organisms. *Canadian Journal of Zoology* 61:281-288.

Rothschild, B., and L.D. Martin. 1987. Avascular necrosis: occurence in diving Cretaceous mosasaurs. *Science* 236:75.

Rothschild, B.M., and V. Naples. 2015. Decompression syndrome and diving behavior in Odontochelys, the first turtle. *Acta Palaeontologica Polonica* 60:163-167.

Sakamoto, W., I. Uchida, Y. Naito, K. Kureha, M. Tujimura, and K. Sato. 1990. Deep diving behavior of the loggerhead turtle near the frontal zone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56:1435.

Sapsford, C. 1978. Anatomical evidence for intracardiac blood shunting in marine turtles. *African Zoology* 13:57-62.

Sasso, C.R., and S.P. Epperly. 2006. Seasonal sea turtle mortality risk from forced submergence in bottom trawls. *Fisheries Research* 81:86-88.

Sawatzky, K.D. 1993. The relationship between intravascular Doppler-detected gas bubbles and decompression sickness after bounce diving in humans.

Schipke, J.D., E. Gams, and O. Kallweit. 2006. Decompression sickness following breath-hold diving. *Research in sports medicine* 14:163-178.

Scholander, P.F. 1940. Experimental investigations on the respiratory function in diving mammals and birds. *Hvalrådets Skrifter* 22:1-131.

Scholander, P.F. 1963. The Master Switch of Life. *Scientific American* 209:92-106.

Shapiro, S.S., and M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591-611.

Shelton, G., and W. Burggren. 1976. Cardiovascular dynamics of the chelonia during apnoea and lung ventilation. *Journal of Experimental Biology* 64:323-343.

Snoddy, J.E., M. Landon, G. Blanvillain, and A. Southwood. 2009. Blood Biochemistry of Sea Turtles Captured in Gillnets in the Lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Journal of Wildlife Management* 73:1394-1401.

Snoddy, J.E., and A. Southwood Williard. 2010. Movements and post-release mortality of juvenile sea turtles released from gillnets in the lower Cape Fear River, North Carolina, USA. *Endangered Species Research* 12:235-247.

Solomon, S.E., and M. Purton. 1984. The respiratory epithelium of the lung in the green turtle (Chelonia mydas L.). *Journal of anatomy* 139:353.

Southwood, A., K. Fritsches, R. Brill, and Y. Swimmer. 2008. Sound, chemical, and light detection in sea turtles and pelagic fishes: sensory-based approaches to bycatch reduction in longline fisheries. *Endangered Species Research* 5:225-238.

Southwood, A.L. 2013. Physiology as integrated systems. In The biology of sea turtles. J. Wyneken, K.J. Lohmann, and J.A. Musick, editors. CRC, 1-30.

Southwood, A.L., R.D. Andrews, M.E. Lutcavage, F.V. Paladino, N.H. West, R.H. George, and D.R. Jones. 1999. Heart rates and diving behavior of leatherback sea turtles in the Eastern Pacific Ocean. *Journal of Experimental Biology* 202:1115-1125.

Stabenau, E.K., T.A. Heming, and J.F. Mitchell. 1991. Respiratory, acid-base and ionic status of Kemps Ridley sea-turtles (Lepidochelys-Kempi) subjected to trawling. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology* 99:107-111.

Stabenau, E.K., and K. Vietti. 2003. The physiological effects of multiple forced submergences in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Fishery Bulletin* 101:889-899.

Stacy, B.A., J.L. Keene, and B.A. Schroeder. 2016. Report of the technical expert workshop: developing national criteria for assessing post-interaction mortality of sea turtles in trawl, net, and pot/trap fisheries: Shepherdstown, West Virginia, USA, 18-22 August 2015.

Stacy, N., and C. Innis. 2017. Clinical Pathology. In Sea Turtle Health and Rehabilitation. Plantation, FL: J. Ross Publishing. 147-207.

Stewart, K., C. Johnson, and M.H. Godfrey. 2007. The minimum size of leatherbacks at reproductive maturity, with a review of sizes for nesting females from the Indian, Atlantic and Pacific Ocean basins. *The Herpetological Journal* 17:123-128.

Stokes, L., and C. Bergmann. 2019. Careful Release Protocols for Sea Turtle Release with Minimal Injury.

Stokes, L., S.P. Epperly, L.I. Avens, L.C. Belskis, S.R. Benson, J. Braun-McNeill, P.H. Dutton, J. Flanagan, C.A. Harms, and B.M. Higgins. 2008. Sea turtle research techniques manual.

Swanson, E.J., V. Mohan, J. Kheir, and M.A. Borden. 2010. Phospholipid-stabilized microbubble foam for injectable oxygen delivery. *Langmuir* 26:15726-15729.

Swimmer, Y., R. Arauz, M. McCracken, L. McNaughton, J. Ballestero, M. Musyl, K. Bigelow, and R. Brill. 2006. Diving behavior and delayed mortality of olive ridley sea turtles Lepidochelys olivacea after their release from longline fishing gear. *Marine Ecology Progress Series* 323:253-261.

Swimmer, Y., R. Brill, and M. Musyl. 2002. Use of pop-up satellite archival tags to quantify mortality of marine turtles incidentally captured in longline fishing gear. *Marine Turtle Newsletter* 97:3-7.

Swimmer, Y., C. Empey Campora, L. McNaughton, M. Musyl, and M. Parga. 2014. Post‐release mortality estimates of loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in pelagic longline fisheries based on satellite data and hooking location. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 24:498-510.

Taylor, E.W., D.V. Andrade, A.S. Abe, C.A.C. Leite, and T. Wang. 2009. The unequal influences of the left and right vagi on the control of the heart and pulmonary artery in the rattlesnake, *Crotalus durissus*. *Journal of Experimental Biology* 212:145-151.

Thomson, J.A., and M.R. Heithaus. 2014. Animal-borne video reveals seasonal activity patterns of green sea turtles and the importance of accounting for capture stress in short-term biologging. *Journal of experimental marine biology and ecology* 450:15-20.

Tibbles, P., and J. Edelsberg. 1996. Hyperbaric-Oxygen Therapy. *The New England Journal of Medicine* 334:1642-1648.

Upite, C.M., K.T. Murray, B.A. Stacy, S.E. Weeks, and C.R. Williams. 2013. Serious injury and mortality determinations for sea turtles in US Northeast and Mid-Atlantic fishing gear, 2006-2010.

Valente, A., M. Parga, Y. Espada, S. Lavin, F. Alegre, I. Marco, and R. Cuenca. 2007. Ultrasonographic imaging of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Veterinary Record* 161:226-232.

van Beeck, E.F., C. Branche, D. Szpilman, J.H. Modell, and J.J. Bierens. 2005. A new definition of drowning: towards documentation and prevention of a global public health problem. *Bulletin of the World Health Organization* 83:853-856.

Vann, R.D., F.K. Butler, S.J. Mitchell, and R.E. Moon. 2011. Decompression illness. *The Lancet* 377:153-164.

Varlet, V., F. Smith, N. Giuliani, C. Egger, A. Rinaldi, A. Dominguez, C. Chevallier, C. Bruguier, M. Augsburger, and P. Mangin. 2015. When gas analysis assists with postmortem imaging to diagnose causes of death. *Forensic science international* 251:1-10.

Wallace, B.P., A.D. DiMatteo, A.B. Bolten, M.Y. Chaloupka, B.J. Hutchinson, F.A. Abreu-Grobois, J.A. Mortimer, J.A. Seminoff, D. Amorocho, and K.A. Bjorndal. 2011. Global conservation priorities for marine turtles. *PloS one* 6:e24510.

Wallace, B.P., S.S. Heppell, R.L. Lewison, S. Kelez, and L.B. Crowder. 2008. Impacts of fisheries bycatch on loggerhead turtles worldwide inferred from reproductive value analyses. *Journal of Applied Ecology* 45:1076-1085.

Wallace, B.P., C.Y. Kot, A.D. DiMatteo, T. Lee, L.B. Crowder, and R.L. Lewison. 2013. Impacts of fisheries bycatch on marine turtle populations worldwide: toward conservation and research priorities. *Ecosphere* 4:1-49.

Wallace, B.P., R.L. Lewison, S.L. McDonald, R.K. McDonald, C.Y. Kot, S. Kelez, R.K. Bjorkland, E.M. Finkbeiner, S.r. Helmbrecht, and L.B. Crowder. 2010. Global patterns of marine turtle bycatch. *Conservation letters* 3:131-142.

Wang, J., J. Barkan, S. Fisler, C. Godinez-Reyes, and Y. Swimmer. 2013. Developing ultraviolet illumination of gillnets as a method to reduce sea turtle bycatch. *Biology letters* 9:20130383.

Wang, T. 2011. Gas exchange in frogs and turtles: how ectothermic vertebrates contributed to solving the controversy of pulmonary oxygen secretion. *Acta Physiologica* 202:593-600.

Wang, T., and J.W. Hicks. 1996a. Cardiorespiratory synchrony in turtles. *Journal of Experimental Biology* 199:1791-1800.

Wang, T., and J.W. Hicks. 1996b. The interaction of pulmonary ventilation and the right-left shunt on arterial oxygen levels. *Journal of Experimental Biology* 199:2121-2129.

Wang, T., E.H. Krosniunas, and J.W. Hicks. 1997. The role of cardiac shunts in the regulation of arterial blood gases. *American Zoologist* 37:12-22.

Wang, T., S. Warburton, A. Abe, and T. Taylor. 2001. Vagal control of heart rate and cardiac shunts in reptiles: Relation to metabolic state. *Experimental Physiology* 86:777-784.

Watson, J.W., S.P. Epperly, A.K. Shah, and D.G. Foster. 2005. Fishing methods to reduce sea turtle mortality associated with pelagic longlines. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62:965-981.

West, J.B. 1962. Regional differences in gas exchange in the lung of erect man. *Journal of Applied Physiology* 17:893-898.

West, N.H., P.J. Butler, and R.M. Bevan. 1992. Pulmonary blood-flow at rest and during swimming in the green turtle, Chelonia-mydas. *Physiological Zoology* 65:287-310.

White, F. 1976a. Circulation-In: Gans C., Dawson WR (Eds.). Biology of the Reptilia, vol. 5. In Academic Press.

White, F.N. 1976b. Circulation. In Biology of the Reptilia. C. Gans, and E.R. Dawson, editors. Academic Press, New York. 275-334.

White, F.N., J.W. Hicks, and A. Ishimatsu. 1989. Respiratory states and intracardiac shunts in turtles. *American Journal of Physiology* 256:R240-R247.

White, F.N., and G. Ross. 1966. Circulatory changes during experimental diving in the turtle. *Am J Physiol* 211:15-18.

Wibbels, T. 1989. Shrimp trawl-induced mortality of sea turtles during short duration trawling. *Marine turtle newsletter* 47:3-5.

Williams, C.L., K. Sato, and P.J. Ponganis. 2019. Activity, not submergence, explains diving heart rates of captive loggerhead sea turtles. *Journal of Experimental Biology* 222:jeb200824.

Wilson, S.M., G.D. Raby, N.J. Burnett, S.G. Hinch, and S.J. Cooke. 2014. Looking beyond the mortality of bycatch: sublethal effects of incidental capture on marine animals. *Biological Conservation* 171:61-72.

Wolke, R.E., and A. George. 1981. Sea turtle necropsy manual.

Work, T.M., and G.H. Balazs. 2002. Necropsy findings in sea turtles taken as bycatch in the North Pacific longline fishery. *Fishery Bulletin* 100:876-880.

Work, T.M., and G.H. Balazs. 2010. Pathology and distribution of sea turtles landed as bycatch in the Hawaii-based North Pacific pelagic longline fishery. *Journal of Wildlife Diseases* 46:422-432.

Wyneken, J. 2001a. The anatomy of sea turtles In U.S. Department of Commerce, 172.

Wyneken, J. 2001b. The anatomy of sea turtles.
Wyneken, J. 2007. 9 The Structure of Cardiopulmonary Systems of Turtles. *Biology of Turtles: From Structures to Strategies of Life*
Wyneken, J. 2009. Normal Reptile Heart Morphology and Function. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 12:51-63.
Wyneken, J., K.J. Lohmann, and J.A. Musick. 2013a. The biology of sea turtles. CRC,
Wyneken, J., K.J. Lohmann, and J.A. Musick. 2013b. The Biology of Sea Turtles, Volume III. CRC Press, Boca Raton, FL.
Yokota, K., M. Kiyota, and H. Okamura. 2009. Effect of bait species and color on sea turtle bycatch and fish catch in a pelagic longline fishery. *Fisheries Research* 97:53-58.
Zimmer, W.M., and P.L. Tyack. 2007. Repetitive shallow dives pose decompression risk in deep‐diving beaked whales. *Marine Mammal Science* 23:888-925.
Zug, G.R., R.V. Wilson, and C.H. Ernst. 1998. Lepidochelys olivacea. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles (CAAR)*



CONCLUSIONES

IX- CONCLUSIONES FINALES

1 – Primera

Se ha demostrado por primera vez que las tortugas marinas capturadas accidentalmente pueden desarrollar embolismo gaseoso y morir como consecuencia de la enfermedad descompresiva.

2 – Segunda

La ecografía del riñón y el corazón es más sensible que la radiografía para detectar la embolia gaseosa. La radiografía es superior a la ecografía para evaluar su severidad, aunque inferior a la TC para cuantificar el volumen de gas patológico y su distribución.

3 – Tercera

En casos moderados o graves las burbujas intravasculares son fácilmente visibles en los vasos mesentéricos y las cámaras cardiacas (especialmente atrio derecho y seno venoso) durante la necropsia. Sin embargo, los casos leves presentan mayores dificultades para detectar las pequeñas burbujas de gas intravasculares que son más fáciles de detectar e interpretar, mediante técnicas de imagen *post mortem* antes de iniciar la necropsia.

4 – Cuarta

El tratamiento más rápido y eficaz de la enfermedad descompresiva en las tortugas es la recompresión precoz con oxigeno hiperbárico, empleando periodos prolongados de 12-16h a presiones de hasta 2,8 ATA.

5- Quinta

Las tortugas supervivientes a la enfermedad descompresiva pueden presentar daños tisulares en diferentes órganos y tejidos a modo de secuelas, cuyos efectos a largo plazo pueden comprometer su supervivencia.

6- Sexta

La incidencia de esta enfermedad en las tortugas capturadas accidentalmente por pesquerías de la Comunidad Valenciana durante 2011-2020 fue del 57%, con una tasa de mortalidad en los afectados del 29%, frente a una mortalidad del 4% en animales sin la enfermedad.

7- Séptima

Con el tratamiento específico, la tasa de supervivencia global en los afectados por embolismo gaseoso que ingresan vivos supera el 90% (94% de los casos procedentes de arrastreros y 80% de los casos procedentes de trasmallo).

8- Octava

Los factores ambientales que se asocian con la mortalidad global de tortugas en pesquerías de la Comunidad Valenciana son: la profundidad de calado, la duración del lance y la temperatura del agua. La mortalidad está también relacionada con la aspiración de agua de mar, la severidad del embolismo gaseoso, o con el tipo de pesquería de origen (trasmallo/arrastre). La presencia y severidad del embolismo se asocia a la profundidad de calado, al tipo de pesquería, a la aspiración de agua de mar y al tamaño de la tortuga (LCC y peso).

9- Novena

A bordo de buques arrastreros el 100% de los ejemplares estudiados estaban afectados por embolismo gaseoso, con una mortalidad total a 30 días entre el 44% y el 63%. En estos casos la mortalidad se asocia a la presencia de aspiración de agua de mar y al nivel de consciencia de los animales al subir a cubierta. Estos dos factores junto con la duración del calado, se relacionan también con la gravedad del embolismo observado en los animales.

10- Décima

A día de hoy se ha podido evidenciar que al menos 5 de las 7 especies de tortugas marinas existentes son susceptibles a sufrir embolismo gaseoso como consecuencia de la descompresión.



PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

X- PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

A modo de resumen y como recopilatorio de la producción científica asociada a esta Tesis Doctoral cabe destacar:

Publicaciones asociadas al Capítulo 1:

1- Nuestro primer artículo científico que a día de hoy sigue considerándose la publicación de referencia en el tema:

- ***García-Párraga, D****., Crespo-Picazo, J. L., de Quirós, Y. B., Cervera, V., Martí-Bonmati, L., Díaz-Delgado, J., ... & Fernández, A. (2014). Decompression sickness ('the bends') in sea turtles. Diseases of aquatic organisms, 111(3), 191-205.*

2- Artículos científicos complementarios sobre la fisiopatología del proceso:

- ***García-Párraga, D.,*** *Lorenzo, T., Wang, T., Ortiz, J. L., Ortega, J., Crespo-Picazo, J. L., ... & Fahlman, A. (2018). Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). Journal of Experimental Biology, 221(23).*

Este artículo trata de dar explicación a los mecanismos que desencadenan el proceso mediante el estudio de la funcionalidad in vitro de los esfínteres en la arteria pulmonar de las tortugas.

- ***García-Párraga, D.,*** *Moore, M., & Fahlman, A. (2018). Pulmonary ventilation–perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 285(1877), 20180482.*

Este trabajo es en parte un recopilatorio del conocimiento actual sobre fisiología del buceo en vertebrados buceadores, pero también propone nuevos mecanismos sobre cómo tortugas y mamíferos marinos podrían desarrollar su actividad de buceo sin verse afectados por la DCS mediante el adecuado manejo de la ventilación y la perfusión a nivel del pulmón.

3- Capítulos de libros:

- ***García-Párraga, D.,*** *Valente, A. L. S., Stacy, B. A., and Wyneken, J. (2017). Cardiovascular system, in. Sea Turtle Health and Rehabilitation, ed. C. A. Manire (Plantation, FL: J. Ross Publishing), 295–320.*

Revisión exhaustiva de los aspectos más relevantes de la anatomía, fisiología y patología cardiovascular de las tortugas marinas entre los que se describen las diferentes adaptaciones y mecanismos cardiocirculatorios para minimizar el riesgo de descompresión en estas especies.

- *Crespo-Picazo, J. L., Marco-Cabedo, V., & **García-Párraga, D.** (2020) El desconocido caso de descompresión de las tortugas marinas, In. Mediterráneo Económico. Nº.33, 119-142*

Se trata de un capítulo de una serie editorial más científico-divulgativa sobre el descubrimiento y descripción de la enfermedad por nuestro grupo en aguas del Mar Mediterráneo.

Publicaciones asociadas al Capítulo 2:

1. Capítulo de la última edición del libro de referencia en medicina de zoo y fauna salvaje: Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy.

    - ***García-Párraga, D.,** & Crespo-Picazo, J. L. (2019). Decompression Medicine in Aquatic Species (Fish and Sea Turtle Focus). In Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9 (pp. 345-355). WB Saunders.*

En el mencionado capitulo se compendia toda la información más relevante en referencia al diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

2. Adicionalmente en el campo diagnostico también participé en el siguiente artículo científico:

    - *Portugues, C., Crespo-Picazo, J. L., **García-Párraga, D.,** Altimiras, J., Lorenzo, T., Borque-Espinosa, A., & Fahlman, A. (2018). Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). Conservation physiology, 6(1), 74.*

Este trabajo se centra concretamente en el uso de la técnica de espirometría en tortugas marinas como herramienta diagnóstica a la hora de detectar la enfermedad y grado de afectación del animal, así como para medir su recuperación y la adecuación de la respuesta al tratamiento.

Publicaciones asociadas al Capítulo 3:

1. En referencia a la **evaluación del impacto de la DCS en pesquerías de la Comunidad Valencian**a tendríamos el siguiente artículo como publicación principal:

    - *Fahlman, A., Crespo-Picazo, J. L., Sterba-Boatwright, B., Stacy, B. A., & **García-Párraga, D.** (2017). Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in trawls and gillnets. Scientific reports, 7(1), 1-7.*

Este artículo incluyó los primeros 128 casos de pesca accidental en Comunidad Valenciana y desarrolló un modelo estadístico para predecir el riesgo de sufrir la enfermedad (en distintos grados) en base a diferentes factores ambientales o individuales. En el trabajo se demuestra que la profundidad de calado es un factor crítico asociado con el riesgo de descompresión y la gravedad del embolismo. En el presente trabajo de Tesis Doctoral hemos querido incluir una revisión de casos más amplia contemplando toda la casuística de los últimos 10 años (desde principios de 2011 hasta finales de 2020) incluyendo al total de las 435 tortugas entregadas por pescadores, tratando de calcular los factores epidemiológicos más relevantes para las pesquerías de nuestra región.

2. En relación con este apartado, también participé en la redacción del siguiente Capítulo de Libro:

    - *Parga, M., Crespo-Picazo, J. L., **García-Párraga, D.**, Stacy, B. A., & Harms, C. A. (2017). Fisheries and Sea Turtles in. Sea turtle health & rehabilitation, ed. C. A. Manire (Plantation, FL: J. Ross Publishing), 859-898.*

Aquí se describen los diferentes aspectos de las pesquerías relacionados con la conservación de las tortugas marinas, entre los que se incluye un apartado de su afectación por la DCS.

3. En relación a la **evaluación del impacto de la DCS en condiciones de campo a bordo de buques pesqueros y en diferentes regiones,** participé en el siguiente artículo científico:

    - *Parga, M. L., Crespo-Picazo, J. L., Monteiro, D., **García-Párraga, D**., Hernandez, J. A., Swimmer, Y., ... & Stacy, N. I. (2020). on-board study of gas embolism in marine turtles caught in bottom trawl fisheries in the Atlantic Ocean. Scientific reports, 10(1), 1-9.*

Este trabajo recopila una serie de 28 casos evaluados en aguas de Brasil donde el 100% se ven afectados por la enfermedad y un 53,6% termina muriendo a bordo o tras su liberación, dejando en evidencia por tanto el elevado impacto poblacional de al menos algunas pesquerías asociado a esta enfermedad fuera de la Comunidad Valenciana. El actual trabajo de Tesis Doctoral además incluye en relación a este apartado, información epidemiológica adicional aun no publicada sobre 34 nuevos casos estudiados a bordo de buques pesqueros en el Adriático, al sur de Italia.

4. En relación al **impacto de la DCS en las diferentes especies de tortugas** tendríamos el siguiente artículo científico principal:

    - *Crespo-Picazo, J. L., Parga, M., Bernaldo de Quirós, Y., Monteiro, D., Marco-Cabedo, V., Llopis-Belenguer, C., & **García-Párraga, D.** (2020). Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species. Frontiers in Marine Science, 7, 442.*

Este trabajo evidencia la presencia de embolismo gaseoso en 3 nuevas especies de tortugas: tortuga verde (*Chelonia mydas*), la olivácea o golfina (*Lepidochelys olivacea*) y la laúd (*Dermochelys coriacea*) poniendo en evidencia el posible alcance de la enfermedad para las diferentes poblaciones de tortugas de todas las especies a nivel global.

5. De forma complementaria también participé en el siguiente artículo:

    - *Harms, C. A., Boylan, S. M., Stacy, B. A., Beasley, J. F., **García-Párraga, D.**, & Godfrey, M. H. (2020). Gas embolism and massive blunt force trauma to sea turtles entrained in hopper dredges in North and South Carolina, USA. Diseases of Aquatic Organisms, 142, 189-196.*

En este trabajo se describe por primera vez la presencia de embolismo gaseoso en una quinta especie, la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) asociado además a un fenómeno descompresivo no relacionado con la pesca sino con el uso de dragas en puertos.

XI- ANEXOS

A. ARTÍCULOS CIENTÍFICOS EN LOS QUE PARTICIPO RELACIONADOS CON EL TRABAJO

1. ***García-Párraga, D.**, Crespo-Picazo, J. L., de Quirós, Y. B., Cervera, V., Martí-Bonmati, L., Díaz-Delgado, J., ... & Fernández, A. (2014). Decompression sickness ('the bends') in sea turtles. Diseases of aquatic organisms, 111(3), 191-205.*
http://www.int-res.com/articles/dao_oa/d111p191.pdf

Vol. 111: 191–205, 2014
doi: 10.3354/dao02790

DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS
Dis Aquat Org

Published October 16

FREE ACCESS

Decompression sickness ('the bends') in sea turtles

D. García-Párraga[1,*], J. L. Crespo-Picazo[1,2], Y. Bernaldo de Quirós[3], V. Cervera[4], L. Martí-Bonmati[5], J. Díaz-Delgado[3], M. Arbelo[3], M. J. Moore[6], P. D. Jepson[7], Antonio Fernández[3]

[1]Oceanografic, Veterinary Services, Parques Reunidos Valencia, Ciudad de las Artes y las Ciencias, C/ Eduardo Primo Yúfera 1B, 46013 Valencia, Spain
[2]VISAVET Center and Animal Health Department, Veterinary School, Complutense University of Madrid, Av Puerta del Hierro s/n, 28040 Madrid, Spain
[3]University of Las Palmas de Gran Canaria, Institue of Animal Health, C/Transmotaña s/n, Arucas, 35416, Las Palmas, Spain
[4]Hospital Veterinario Valencia Sur, Avda. Picassent, 28, 46460 Silla, Valencia, Spain
[5]Grupo de Investigación Biomédica en Imagen GIBI230, Radiology Department, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Av. Bulevar Sur s/n, 46026 Valencia, Spain
[6]Woods Hole Oceanographic Institution, Department of Biology, 266 Woods Hole Road, Woods Hole, MA 02543, USA
[7]Institute of Zoology, Zoological Society of London, Regent's Park, London, NW1 4RY, UK

ABSTRACT: Decompression sickness (DCS), as clinically diagnosed by reversal of symptoms with recompression, has never been reported in aquatic breath-hold diving vertebrates despite the occurrence of tissue gas tensions sufficient for bubble formation and injury in terrestrial animals. Similarly to diving mammals, sea turtles manage gas exchange and decompression through anatomical, physiological, and behavioral adaptations. In the former group, DCS-like lesions have been observed on necropsies following behavioral disturbance such as high-powered acoustic sources (e.g. active sonar) and in bycaught animals. In sea turtles, in spite of abundant literature on diving physiology and bycatch interference, this is the first report of DCS-like symptoms and lesions. We diagnosed a clinico-pathological condition consistent with DCS in 29 gas-embolized loggerhead sea turtles *Caretta caretta* from a sample of 67. Fifty-nine were recovered alive and 8 had recently died following bycatch in trawls and gillnets of local fisheries from the east coast of Spain. Gas embolization and distribution in vital organs were evaluated through conventional radiography, computed tomography, and ultrasound. Additionally, positive response following repressurization was clinically observed in 2 live affected turtles. Gas embolism was also observed postmortem in carcasses and tissues as described in cetaceans and human divers. Compositional gas analysis of intravascular bubbles was consistent with DCS. Definitive diagnosis of DCS in sea turtles opens a new era for research in sea turtle diving physiology, conservation, and bycatch impact mitigation, as well as for comparative studies in other air-breathing marine vertebrates and human divers.

KEY WORDS: Gas bubbles · DCS · *Caretta caretta* · Loggerheads · Bycatch · Hyperbaric treatment · Gas embolism · Breath-hold divers

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

INTRODUCTION

Decompression sickness (DCS) is a clinical diagnosis encompassing a wide range of manifestations related to formation of gas bubbles within supersaturated tissues after decompression (Barratt et al. 2002, Francis & Mitchell 2003). In human divers, the effects range from trivial to fatal, and most often involve neurological and musculoskeletal symptoms (Francis & Simon 2003, Vann et al. 2011), including severe

*Corresponding author: dgarcia@oceanografic.org

© Inter-Research 2014 · www.int-res.com

2. ***García-Párraga, D.,*** *Lorenzo, T., Wang, T., Ortiz, J. L., Ortega, J., Crespo-Picazo, J. L., ... & Fahlman, A. (2018). Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (Caretta caretta). Journal of Experimental Biology, 221(23).* https://journals.biologists.com/jeb/article/221/23/jeb179820/386/Deciphering-function-of-the-pulmonary-arterial

© 2018. Published by The Company of Biologists Ltd | Journal of Experimental Biology (2018) 221, jeb179820. doi:10.1242/jeb.179820

RESEARCH ARTICLE

Deciphering function of the pulmonary arterial sphincters in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*)

Daniel García-Párraga[1,*], Teresa Lorenzo[1], Tobias Wang[2], Jose-Luis Ortiz[3], Joaquín Ortega[4], Jose-Luis Crespo-Picazo[1], Julio Cortijo[3] and Andreas Fahlman[1,5]

ABSTRACT

To provide new insight into the pathophysiological mechanisms underlying gas emboli (GE) in bycaught loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), we investigated the vasoactive characteristics of the pulmonary and systemic arteries, and the lung parenchyma (LP). Tissues were opportunistically excised from recently dead animals for *in vitro* studies of vasoactive responses to four different neurotransmitters: acetylcholine (ACh; parasympathetic), serotonin (5HT), adrenaline (Adr; sympathetic) and histamine. The significant amount of smooth muscle in the LP contracted in response to ACh, Adr and histamine. The intrapulmonary and systemic arteries contracted under both parasympathetic and sympathetic stimulation and when exposed to 5HT. However, proximal extrapulmonary arterial (PEPA) sections contracted in response to ACh and 5HT, whereas Adr caused relaxation. In sea turtles, the relaxation in the pulmonary artery was particularly pronounced at the level of the pulmonary artery sphincter (PASp), where the vessel wall was highly muscular. For comparison, we also studied tissue response in freshwater sliders turtles (*Trachemys scripta elegans*). Both PEPA and LP from freshwater sliders contracted in response to 5HT, ACh and also Adr. We propose that in sea turtles, the dive response (parasympathetic tone) constricts the PEPA, LP and PASp, causing a pulmonary shunt and limiting gas uptake at depth, which reduces the risk of GE during long and deep dives. Elevated sympathetic tone caused by forced submersion during entanglement with fishing gear increases the pulmonary blood flow causing an increase in N_2 uptake, potentially leading to the formation of blood and tissue GE at the surface. These findings provide potential physiological and anatomical explanations on how these animals have evolved a cardiac shunt pattern that regulates gas exchange during deep and prolonged diving.

KEY WORDS: Blood flow, Decompression sickness, Diving physiology, Pulmonary blood flow, Stress

INTRODUCTION

Marine vertebrates have developed a variety of mechanisms to avoid the many potential problems of diving, such as atelectasis, transient hyperoxia, extreme hypoxia, ischemia/reperfusion, hyper- and hypotension, acid–base balance disturbances, intravascular gas bubbles and inert gas narcosis (Butler and Jones, 1997; Lutz and Bentley, 1985; Ponganis, 2015). Most research on diving vertebrates has been devoted to understanding the management of O_2 stores, but some studies have investigated the physiological traits that prevent, or at least alleviate, the pressure-related problems, such as pulmonary barotrauma, N_2 narcosis and 'the bends' (Berkson, 1967; Bert, 1870; Fahlman et al., 2017b; García-Párraga et al., 2014; Hooker et al., 2012; Moore et al., 2011; Scholander, 1940; García-Párraga et al., 2018).

Decompression sickness (DCS) is a collection of pressure related-symptoms that, by definition, reverse upon recompression treatment (Mahon and Regis, 2014). In scuba divers, continuous breathing of pressurized air results in accumulation of N_2 in the blood and tissues. As the ambient pressure is reduced upon ascent, the high levels of N_2 in the blood and tissues begin to come out of solution, leading to supersaturation in the blood. If the ascent is too rapid, the supersaturation may cause bubbles to form in the blood and tissues (Fahlman, 2017). In breath-hold diving vertebrates, N_2 uptake and removal through the lung is more complex, as increased ambient pressure causes a pulmonary shunt that correlates with dive depth as the pressure compresses the gas exchange surface (Berkson, 1967; Fahlman et al., 2017b; Kooyman and Sinnett, 1982).

A recent study revealed that bycaught turtles also experience gas emboli (GE) after entrapment at depth in fishing gear (García-Párraga et al., 2014). Diagnostic imaging showed widespread GE in the vasculature and tissues (including kidney, heart, liver and spinal cord) upon surfacing. Hyperbaric O_2 treatment alleviated the GE and observable symptoms, and these clinical findings are therefore consistent with those described in human DCS cases (Mahon and Regis, 2014). These observations are significant for sea turtle conservation as fishery bycatch is recognized as the greatest threat for most sea turtles worldwide (Lewison et al., 2013; Wallace et al., 2011). Additionally, considering that DCS probably contributes to post-release mortality, undetected cases following release from the fishing gears may lead to significant underestimates of the numbers of turtles killed by fisheries (Fahlman et al., 2017a; García-Párraga et al., 2014).

Although it is important to understand how passive lung compression alters pulmonary shunt (Fahlman et al., 2009), marine vertebrates may have developed additional mechanisms to limit N_2 uptake. In the loggerhead (*Caretta caretta*), green (*Chelonia mydas*), hawksbill (*Eretmochelys imbricata*) and leatherback (*Dermochelys coriacea*) sea turtles, a large muscular sphincter has been reported on the pulmonary artery before the insertion into the lung (García-Párraga et al., 2017; Sapsford, 1978; Wyneken, 2001). It has been speculated that this sphincter can reduce pulmonary perfusion during diving (García-Párraga et al., 2014; Sapsford, 1978). To investigate this hypothesis, we determined the vasoactive response *in vitro* (in organ baths) to

[1]Fundación Oceanografic de la Comunidad Valenciana, Gran Vía Marques del Turia 19, 46005 Valencia, Spain. [2]Zoophysiology, Department of Biosciences, Aarhus University, 8000 Aarhus C, Denmark. [3]Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Valencia, 46010 Valencia, Spain. [4]Patología y Sanidad Animal, Departamento PASAPTA, Facultad de Veterinaria, Universidad CEU-Cardenal Herrera, CEU Universities, Moncada, 46018 Valencia, Spain. [5]Department of Life Science, Texas A&M University-Corpus Christi, 6300 Ocean Drive, Corpus Christi, TX 78412, USA.

*Author for correspondence (dgarcia@oceanografic.org)

A.F., 0000-0002-8675-6479

Received 16 March 2018; Accepted 14 October 2018

Journal of Experimental Biology

3. ***García-Párraga, D.,*** *Moore, M., & Fahlman, A. (2018). Pulmonary ventilation–perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 285(1877), 20180482.* https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rspb.2018.0482

PROCEEDINGS B

rspb.royalsocietypublishing.org

Review

Cite this article: Garcia Párraga D, Moore M, Fahlman A. 2018 Pulmonary ventilation–perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends. *Proc. R. Soc. B* **285**: 20180482. http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.0482

Received: 4 March 2018
Accepted: 28 March 2018

Subject Category:
Development and physiology

Subject Areas:
ecology, evolution, physiology

Keywords:
diving physiology, cardiorespiratory physiology, whale stranding, noise pollution, climate change

Author for correspondence:
Andreas Fahlman
e-mail: afahlman@whoi.edu

Electronic supplementary material is available online at https://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.c.4064333.

THE ROYAL SOCIETY PUBLISHING

Pulmonary ventilation–perfusion mismatch: a novel hypothesis for how diving vertebrates may avoid the bends

Daniel Garcia Párraga[1], Michael Moore[2] and Andreas Fahlman[1]

[1]Fundación Oceanogràfic, Ciudad de las Artes y las Ciencias, 46013 Valencia, Spain
[2]Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, MA 02543, USA

AF, 0000-0002-8675-6479

Hydrostatic lung compression in diving marine mammals, with collapsing alveoli blocking gas exchange at depth, has been the main theoretical basis for limiting N_2 uptake and avoiding gas emboli (GE) as they ascend. However, studies of beached and bycaught cetaceans and sea turtles imply that air-breathing marine vertebrates may, under unusual circumstances, develop GE that result in decompression sickness (DCS) symptoms. Theoretical modelling of tissue and blood gas dynamics of breath-hold divers suggests that changes in perfusion and blood flow distribution may also play a significant role. The results from the modelling work suggest that our current understanding of diving physiology in many species is poor, as the models predict blood and tissue N_2 levels that would result in severe DCS symptoms (chokes, paralysis and death) in a large fraction of natural dive profiles. In this review, we combine published results from marine mammals and turtles to propose alternative mechanisms for how marine vertebrates control gas exchange in the lung, through management of the pulmonary distribution of alveolar ventilation ($\dot{V}_A$) and cardiac output/lung perfusion ($\dot{Q}$), varying the level of $\dot{V}_A/\dot{Q}$ in different regions of the lung. Man-made disturbances, causing stress, could alter the $\dot{V}_A/\dot{Q}$ mismatch level in the lung, resulting in an abnormally elevated uptake of N_2, increasing the risk for GE. Our hypothesis provides avenues for new areas of research, offers an explanation for how sonar exposure may alter physiology causing GE and provides a new mechanism for how air-breathing marine vertebrates usually avoid the diving-related problems observed in human divers.

1. General overview on respiratory anatomy and physiology in marine mammals

While exposure to high pressure is a common challenge among breath-hold divers, there is large variation in respiratory anatomy, function and capacity between genera and even species [1–3]. The ultra-deep-diving feats of some marine mammals go beyond our current understanding of respiratory physiology and lung mechanics. Many diving adaptations relate to behaviour, intermittent ventilation and physiological functions that support simultaneous activities, including gas exchange, aerobic metabolism, buoyancy control and air storage for echolocation, social vocalization and foraging [1,2,4]. As a generalization, deep divers tend to have greater overall O_2 stores, with a greater proportion of muscle mass, higher myoglobin content, a greater blood volume and higher haematocrit [5–8]. Lungs of deep-diving whales have a smaller mass-specific total lung capacity, are typically smaller, occupy a smaller percentage of thoracic volume and are associated with more vascular retia than the lungs of shallower divers such as nearshore bottlenose dolphins [9,10]. Increased lung volume while diving could increase the amount of N_2 taken up during dives, and thereby increase the risk of decompression sickness (DCS) [11,12]. Thus in deep-diving species, available

© 2018 The Authors. Published by the Royal Society under the terms of the Creative Commons Attribution License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/, which permits unrestricted use, provided the original author and source are credited.

4. *Portugues, C., Crespo-Picazo, J. L.,* ***García-Párraga, D.,*** *Altimiras, J., Lorenzo, T., Borque-Espinosa, A., & Fahlman, A. (2018). Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). Conservation physiology, 6(1), 74.*
https://academic.oup.com/conphys/article/6/1/cox074/4802469

Conservation Physiology Volume 6 • 2018 10.1093/conphys/cox074 SEB SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY

Research article

Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*)

Cyril Portugues[1,2], Jose Luis Crespo-Picazo[1], Daniel García-Párraga[1], Jordi Altimiras[2], Teresa Lorenzo[1], Alicia Borque-Espinosa[1,3,4] and Andreas Fahlman[1,4,*]

[1]Fundación Oceanogràfic de la Comunidad Valenciana, Gran Vía Marqués del Turia 19, 46005 Valencia, Spain
[2]AVIAN Behavioral Genomics and Physiology, Department of Physics, Chemistry and Biology, Linköping University, Linköping 581 83, Sweden
[3]Marine Biology Laboratory, Zoology Department, University of Valencia. Doctor Moliner n° 50, 46100 Valencia, Spain
[4]Grupo de Investigación Biomédica en Imagen GIBI230, Radiology Department, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Av. Bulevard Sur, 46026 Valencia, Spain

***Corresponding author:** Fundación Oceanogràfic de la Comunidad Valenciana, Gran Vía Marqués del Turia 19, 46005 Valencia, Spain. E-mail: afahlman@oceanografic.org

Fisheries interactions are the most serious threats for sea turtle populations. Despite the existence of some rescue centres providing post-traumatic care and rehabilitation, adequate treatment is hampered by the lack of understanding of the problems incurred while turtles remain entrapped in fishing gears. Recently it was shown that bycaught loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) could experience formation of gas emboli (GE) and develop decompression sickness (DCS) after trawl and gillnet interaction. This condition could be reversed by hyperbaric O_2 treatment (HBOT). The goal of this study was to assess how GE alters respiratory function in bycaught turtles before recompression therapy and measure the improvement after this treatment. Specifically, we assessed the effect of DCS on breath duration, expiratory and inspiratory flow and tidal volume (V_T), and the effectiveness of HBOT to improve these parameters. HBOT significantly increased respiratory flows by 32–45% while V_T increased by 33–35% immediately after HBOT. Repeated lung function testing indicated a temporal increase in both respiratory flow and V_T for all bycaught turtles, but the changes were smaller than those seen immediately following HBOT. The current study suggests that respiratory function is significantly compromised in bycaught turtles with GE and that HBOT effectively restores lung function. Lung function testing may provide a novel means to help diagnose the presence of GE, be used to assess treatment efficacy, and contribute to sea turtle conservation efforts.

Key words: Diving physiology, decompression sickness, lung function, comparative physiology

Editor: Steven Cooke

Received 25 September 2017; Revised 18 November 2017; Editorial Decision 19 November 2017; accepted 24 November 2017

Cite as: Portugues C, Crespo-Picazo JL, García-Párraga D, Altimiras J, Lorenzo T, Borque-Espinosa A, Fahlman A (2018) Impact of gas emboli and hyperbaric treatment on respiratory function of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Conserv Physiol* 6(1): cox074; doi:10.1093/conphys/cox074.

Introduction

Decompression sickness (DCS), or 'the bends', is caused by the formation of gas bubbles, most commonly N_2, in blood and tissues (also called gas embolism) after reduction in pressure occurs during ascent from a dive (Mahon and Regis, 2014). In air breathing vertebrates, DCS symptoms range in severity from skin rashes and tissue distortion to central

© The Author(s) 2018. Published by Oxford University Press and the Society for Experimental Biology.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

5. *Fahlman, A., Crespo-Picazo, J. L., Sterba-Boatwright, B., Stacy, B. A., & **García-Párraga, D.** (2017). Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (Caretta caretta) caught in trawls and gillnets. Scientific reports, 7(1), 1-7. https://www.nature.com/articles/s41598-017-02819-5*

www.nature.com/scientificreports

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Defining risk variables causing gas embolism in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) caught in trawls and gillnets

Received: 3 March 2017
Accepted: 18 April 2017
Published online: 01 June 2017

Andreas Fahlman[1], Jose Luis Crespo-Picazo[1], Blair Sterba-Boatwright[2], Brian A. Stacy[3] & Daniel Garcia-Parraga[1]

Incidental capture, or 'bycatch' in fishing gear is a major global threat to sea turtle populations. A recent study showed that underwater entrapment in fishing gear followed by rapid decompression may cause gas bubble formation within the blood stream (embolism) and tissues leading to organ injury, impairment, and even mortality in some bycaught individuals. We analyzed data from 128 capture events using logistic and ordinal regression to examine risk factors associated with gas embolism in sea turtles captured in trawls and gillnets. Likelihood of fatal decompression increases with increasing depth of gear deployment. A direct relationship was found between depth, risk and severity of embolism, which has not been previously demonstrated in any breath-hold diving species. For the trawl fishery in this study, an average trawl depth of 65 m was estimated to result in 50% mortality in by-caught turtles throughout the year. This finding is critical for a more accurate estimation of sea turtle mortality rates resulting from different fisheries and for devising efforts to avoid or minimize the harmful effects of capture.

Decompression sickness (DCS) is a disorder that is mostly reported in association with scuba diving in humans. As divers descend, increasing pressure results in increased solubility of gases within the body, and the blood and tissues absorb greater concentrations of pulmonary gas. When the blood or tissue tension exceeds ambient pressure during the ascent or decompression phase of the dive, gas may come out of solution and form bubbles within the blood stream and tissues, especially if the reduction in pressure is too fast[1]. If sufficiently severe, gas bubble formation or gas embolism (GE) causes clinical symptoms and tissue damage known as DCS[2]. Although bubbles can form from any gas under certain dive profiles, N_2 bubbles are the most common and occur when atmospheric air is breathed during diving. In air-breathing terrestrial mammals, the risk of DCS correlates with dive depth (pressure), time at depth (dive duration), ascent rate (pressure reduction), temperature[3], and allometric variation in cardiac output[1,4,5].

Breath-hold diving vertebrates, such as marine mammals, turtles and penguins, have numerous physiological, anatomical and behavioral traits that allow them to efficiently hunt for prey underwater while avoiding pressure related problems like GE. These traits help alter gas exchange to avoid excessive blood and tissue N_2 tension, thereby minimizing risk of DCS[6,7]. Until recently, it was thought that breath-hold diving vertebrates do not experience DCS as they retain a limited amount of N_2 in their lungs or minimize N_2 uptake during each dive[8]. However, it has been suggested that N_2 could accumulate in the blood and tissues during repeated dives, or as a result of disruption of protective physiological or behavioral mechanisms, making DCS more likely under certain circumstances[9,10]. For example, increased blood flow, as may happen during stress or if an animal is trying to escape, has been shown to correlate with DCS risk in terrestrial mammals[1]. In cetaceans, theoretical models suggest that behavioral (e.g. increased ascent, prolonged dive duration) or physiological (e.g. increased blood

[1]Fundación Oceanogràfic de la Comunidad Valenciana, Gran Vía Marqués del Turia 19, 46005, Valencia, Spain. [2]Texas A & M University-Corpus Christi, 6300 Ocean Drive, Corpus Christi, TX, 78412, USA. [3]National Marine Fisheries Service, Office of Protected Resources, University of Florida, College of Veterinary Medicine (duty station), Post Office Box 110885, Gainesville, FL, 32611, USA. Correspondence and requests for materials should be addressed to A.F. (email: afahlman@oceanografic.org)

6. *Parga, M. L., Crespo-Picazo, J. L., Monteiro, D.,* ***García-Párraga, D.****, Hernandez, J. A., Swimmer, Y., ... & Stacy, N. I. (2020). On-board study of gas embolism in marine turtles caught in bottom trawl fisheries in the Atlantic Ocean. Scientific reports, 10(1), 1-9.* https://www.nature.com/articles/s41598-020-62355-7

www.nature.com/scientificreports

SCIENTIFIC REPORTS
nature research

OPEN

On-board study of gas embolism in marine turtles caught in bottom trawl fisheries in the Atlantic Ocean

M. L. Parga[1*], J. L. Crespo-Picazo[2], D. Monteiro[3], D. García-Párraga[2], J. A. Hernandez[4], Y. Swimmer[5], S. Paz[3] & N. I. Stacy[6]

Decompression sickness (DCS) was first diagnosed in marine turtles in 2014. After capture in net fisheries, animals typically start showing clinical evidence of DCS hours after being hauled on-board, often dying if untreated. These turtles are normally immediately released without any understanding of subsequent clinical problems or outcome. The objectives of this study were to describe early occurrence and severity of gaseous embolism (GE) and DCS in marine turtles after incidental capture in trawl gear, and to provide estimates of on-board and post-release mortality. Twenty-eight marine turtles were examined on-board fishing vessels. All 20 turtles assessed by ultrasound and/or post-mortem examination developed GE, independent of season, depth and duration of trawl and ascent speed. Gas emboli were obvious by ultrasound within 15 minutes after surfacing and worsened over the course of 2 hours. Blood data were consistent with extreme lactic acidosis, reduced glomerular filtration, and stress. Twelve of 28 (43%) animals died on-board, and 3 of 15 (20%) active turtles released with satellite tags died within 6 days. This is the first empirically-based estimate of on-board and post-release mortality of bycaught marine turtles that has until now been unaccounted for in trawl fisheries not equipped with turtle excluder devices.

Bycatch of marine turtles is a well-documented threat to populations worldwide and, depending on types of fishing gear and nature of interaction, can be associated with high mortality rates[1,2]. Wallace *et al.*[3] estimated that at least 85,000 marine turtles globally were taken as bycatch in gillnets, longlines, and trawls from 1990 to 2008. In recent years, increased research efforts have focused on understanding population-level impacts of marine turtle bycatch, specifically in trawl and net fisheries[2,4,5], providing useful information for ecological models, conservation efforts, and fisheries management and policies. However, accurate estimation of mortality remains a persistent challenge, particularly estimates of delayed mortality of turtles that are released from fishing gear alive and later die (i.e., post-release mortality). Satellite telemetry has also emerged as a useful tool for inferring the fate of animals following release[6,7].

Until recently, mortality of turtles captured in trawl gear has been mainly attributed to the effects of hypoxia and water aspiration associated with forced submergence or to sequelae of traumatic injuries[8–10]. There has been limited study of post-release mortality of marine turtles following capture by trawl fisheries[11,12]. This presents a critical knowledge gap, since such knowledge is essential in informing policy makers to refine sustainable fisheries management practices. In 2014, gas embolism (GE) and consequent decompression sickness (DCS) were first diagnosed in marine turtles captured in trawl and gillnet fisheries in Spain[13]. These novel findings challenged our previous assumptions about marine turtle physiological adaptations to diving[14–16] and opened a new area of interest regarding the effects of subsurface incidental capture and delayed mortality.

GE refers to gas bubble formation within blood vessels and supersaturated tissues after decompression, whereas DCS is consistent with the clinical diagnosis comprising a wide range of clinical manifestations from gas bubble formation in different tissues[17,18]. DCS is a debilitating and potentially fatal condition that has been

[1]SUBMON Associació, c/Ortigosa 14, 08003, Barcelona, Spain. [2]Research Department. Fundación Oceanogràfic de la Comunidad Valenciana. C/ Gran Vía Marqués del Turia 19, 46005, Valencia, Spain. [3]Projeto Tartarugas no Mar. Núcleo de Educação e Monitoramento Ambiental – NEMA. Rua Maria Araújo, 450, Cassino, Rio Grande, RS, 96207-480, Brazil. [4]Department of Large Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Florida, Gainesville, Florida, USA. [5]NOAA Fisheries, Pacific Islands Fisheries Science Center, Honolulu, Hawaii, USA. [6]Aquatic, Amphibian, and Reptile Pathology Program, Department of Comparative, Diagnostic, and Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Florida, Gainesville, Florida, USA. *email: mariluz@submon.org

7. *Crespo-Picazo, J. L., Parga, M., Bernaldo de Quirós, Y., Monteiro, D., Marco-Cabedo, V., Llopis-Belenguer, C., & **García-Párraga, D.** (2020). Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species. Frontiers in Marine Science, 7, 442.*
https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2020.00442/full?utm_source=F-AAE&utm_medium=EMLF&utm_campaign=MRK_1361476_45_Marine_20200625_arts_A

frontiers in Marine Science

BRIEF RESEARCH REPORT
published: 12 June 2020
doi: 10.3389/fmars.2020.00442

Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species

Jose L. Crespo-Picazo[1], Mariluz Parga[2], Yara Bernaldo de Quirós[3], Danielle Monteiro[4], Vicente Marco-Cabedo[1], Cristina Llopis-Belenguer[1,5] and Daniel García-Párraga[1]*

[1] Fundación Oceanogràfic de la Comunidad Valenciana, Valencia, Spain, [2] SUBMON Associació, Barcelona, Spain, [3] Atlantic Center for Cetacean Research, Institute of Animal Health and Food Safety (IUSA), Veterinary School, University of Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas, Spain, [4] Projeto Tartarugas no Mar. Núcleo de Educação e Monitoramento Ambiental, Rio Grande, Brazil, [5] Symbiosis Lab, Cavanilles Institute of Biodiversity and Evolutionary Biology, University of Valencia, Valencia, Spain

The recent finding of gas embolism (GE) and decompression sickness (DCS) in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Mediterranean Sea challenged the conventional understanding of marine vertebrate diving physiology. Additionally, it brought to light a previously unknown source of mortality associated with fisheries bycatch for this vulnerable species. In this paper, we use ultrasonography to describe GE in a leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*), a green sea turtle (*Chelonia mydas*), and an olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*) from accidental capture in a gillnet, bottom trawl, and pair-bottom trawl, respectively. This is the first description of this condition in these three species worldwide. These cases of GE suggest that this may be a threat faced by all sea turtle species globally.

Keywords: sea turtle, gas embolism, decompression sickness, fisheries, bycatch

OPEN ACCESS

Edited by:
Peter H. Dutton,
Southwest Fisheries Science Center (NOAA), United States

Reviewed by:
Thierry Work,
United States Geological Survey (USGS), United States
Kara Dodge,
New England Aquarium, United States

***Correspondence:**
Jose L. Crespo-Picazo
jlcrespo@oceanografic.org

Specialty section:
This article was submitted to Marine Conservation and Sustainability, a section of the journal Frontiers in Marine Science

Received: *18 February 2020*
Accepted: *20 May 2020*
Published: *12 June 2020*

Citation:
Crespo-Picazo JL, Parga M, Bernaldo de Quirós Y, Monteiro D, Marco-Cabedo V, Llopis-Belenguer C and García-Párraga D (2020) Novel Insights Into Gas Embolism in Sea Turtles: First Description in Three New Species. Front. Mar. Sci. 7:442. doi: 10.3389/fmars.2020.00442

INTRODUCTION

The incidental capture of sea turtles by fisheries, referred to as bycatch, is recognized as the greatest threat for the conservation of the species within this group worldwide (Wallace et al., 2010). Currently, six out the seven sea turtle species are listed by the International Union for Conservation of Nature as vulnerable, endangered, or critically endangered[1] (accessed 28 April 2020). Despite this, accurate assessment of the global effects of bycatch is extremely challenging (Lewison et al., 2004). The size of global fishing fleet is too numerous to be monitored effectively, especially considering that much fishing occurs in international waters and many undocumented boats (Lewison et al., 2014). To address the issue of sea turtle bycatch therefore requires research and collaborative efforts among scientist, conservationists, industry, and managers (Lewison et al., 2004). The annual average number of sea turtle bycatch reported globally between 1990 and 2008 was 4722 turtles, but estimations of true total bycatch numbers are of two orders of magnitude higher given that only 1% of fleets report these data (Wallace et al., 2010).

A review of sea turtle bycatch in the Mediterranean Sea estimated over 132,000 captures and 44,000 mortalities per year (Casale, 2011). The fishing gear that caused the most captures was pelagic longline, followed by bottom trawl, setnets (single netting wall set stationary on the bottom),

[1] www.iucnredlist.org

8. *Harms, C. A., Boylan, S. M., Stacy, B. A., Beasley, J. F., **García-Párraga, D.**, & Godfrey, M. H. (2020). Gas embolism and massive blunt force trauma to sea turtles entrained in hopper dredges in North and South Carolina, USA. Diseases of Aquatic Organisms, 142, 189-196.*
https://www.int-res.com/abstracts/dao/v142/p189-196/

Vol. doi: 10.3354/dao03542	DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS Dis Aquat Org	Published

Gas embolism and massive blunt force trauma to sea turtles entrained in hopper dredges in North and South Carolina, USA

Craig A. Harms[1,*], Shane M. Boylan[2], Brian A. Stacy[3], Jean F. Beasley[4], Daniel García-Párraga[5], Matthew H. Godfrey[1,6,7]

[1]North Carolina State University, College of Veterinary Medicine, Department of Clinical Sciences, and Center for Marine Sciences and Technology, Morehead City, North Carolina 28557, USA
[2]South Carolina Aquarium, 100 Aquarium Wharf, Charleston, South Carolina 29401, USA
[3]National Marine Fisheries Service, Office of Protected Resources, University of Florida (duty station), Gainesville, Florida 32611, USA
[4]Karen Beasley Sea Turtle Rescue and Rehabilitation Center, Surf City, North Carolina 28445, USA
[5]Fundación Oceanogràfic, Veterinary Services & Research Department, 46013 Valencia, Spain
[6]North Carolina Wildlife Resources Commission, Beaufort, North Carolina 28516, USA
[7]Duke Marine Laboratory, Nicholas School of the Environment, Duke University, Beaufort, North Carolina 28516, USA

ABSTRACT: Decompression sickness (DCS) has been described mainly in loggerhead turtles *Caretta caretta* bycaught in trawls and gillnets. Here we present cases of gas emboli (GE) in 8 green turtles *Chelonia mydas* and 2 Kemp's ridleys *Lepidochelys kempii* entrained in hopper dredges that were working at 8.8–15.2 m depths during shipping channel maintenance or beach renourishment activities. Turtle weights ranged from 2.2 to 6.7 kg. All were found alive with blunt force injuries from passage through the dredge and were taken to rehabilitation facilities. Four green turtles died or were euthanized within 24 h. Six turtles survived. Radiographic or ultrasonographic evidence of GE was detected in 4 turtles, including 3 mortalities. Computed tomography (CT) revealed perirenal and cervical GE in 4 turtles, including 1 mortality. No GE were detected in 2 of the survivors. Upon necropsy, GE were found in mesenteric vessels, the right atrium, and kidneys. Histopathology confirmed that tissues were in a good state of preservation without evidence of bacterial overgrowth or putrefactive gas formation. Death likely resulted primarily from massive tissue trauma from the dredge, but moderate GE could have led to DCS and complicated recovery. The surviving turtles weighed less than those that did not survive. Besides hypothesized stress/exercise-induced circulatory changes of blood through the lungs and pressure reduction of forced surfacing from depth, drastic pressure change within the dredge pipes before and after the pump could contribute to GE. Hopper dredge entrainment is an additional cause of GE and potential DCS in sea turtles.

KEY WORDS: Gas embolism · Hopper dredge · Decompression sickness · Blunt force trauma · Sea turtle · *Chelonia mydas* · *Lepidochelys kempii*

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

1. INTRODUCTION

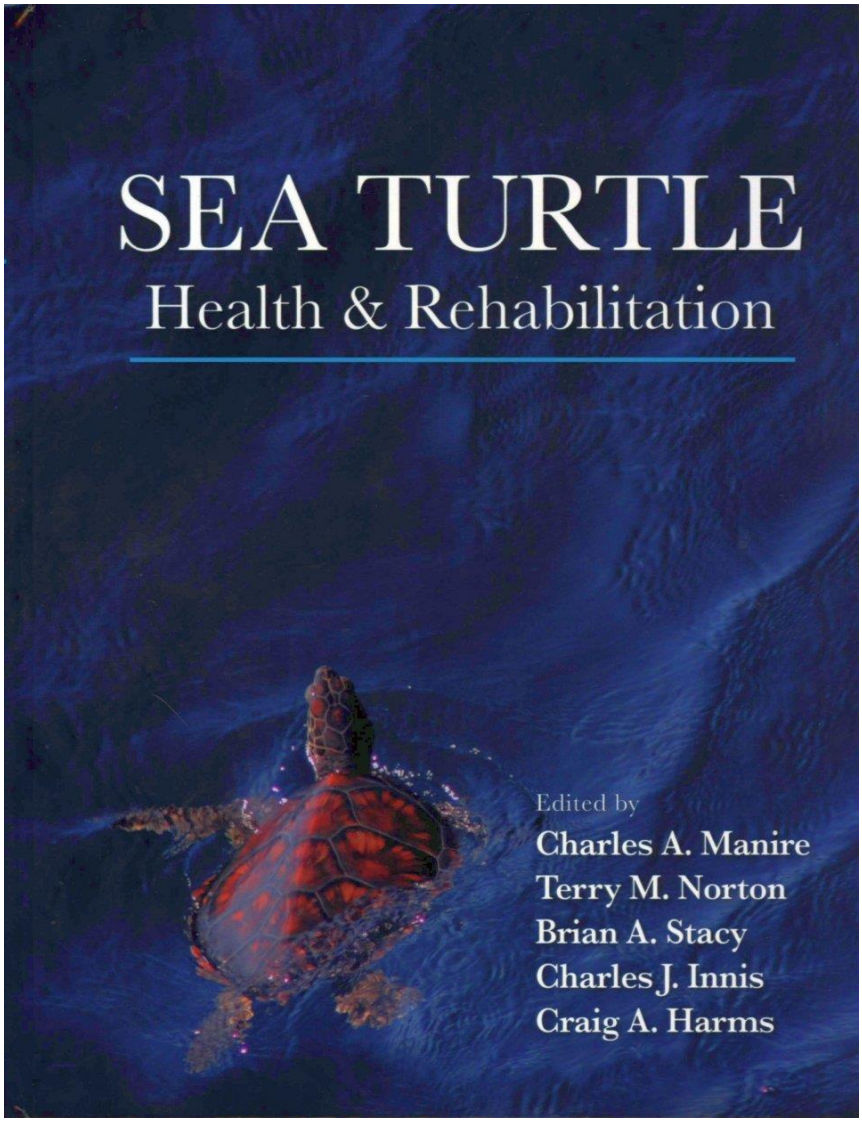
Decompression sickness (DCS) has been described in loggerhead turtles *Caretta caretta* bycaught in trawls and gillnets (García-Párraga et al. 2014, Parga et al. 2020). Gas emboli (GE) have also been observed in a leatherback *Dermochelys coriacea*, a green turtle *Chelonia mydas*, and an olive ridley *Lepidochelys olivacea* following capture in fishing gear (Parga et al. 2017, 2020, Crespo-Picazo et al.

*Corresponding author: craig_harms@ncsu.edu

© Inter-Research 2020 · www.int-res.com

B. CAPÍTULOS DE LIBROS RELACIONADOS

1. ***García-Párraga, D.,*** *Valente, A. L. S., Stacy, B. A., and Wyneken, J. (2017). Cardiovascular system, in. Sea Turtle Health and Rehabilitation, ed. C. A. Manire (Plantation, FL: J. Ross Publishing), 295–320.*
2. *Parga, M., Crespo-Picazo, J. L.,* ***García-Párraga, D.****, Stacy, B. A., & Harms, C. A. (2017). Fisheries and Sea Turtles in. Sea turtle health & rehabilitation, ed. C. A. Manire (Plantation, FL: J. Ross Publishing), 859-898.*



3. *Crespo-Picazo, J. L., Marco-Cabedo, V., &* ***García-Párraga, D.*** *(2020) El desconocido caso de descompresión de las tortugas marinas, In. Mediterráneo Económico. Nº.33, 119-142*



4. ***García-Párraga, D.,*** *& Crespo-Picazo, J. L. (2019). Decompression Medicine in Aquatic Species (Fish and Sea Turtle Focus). In Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy, Volume 9 (pp. 345-355). WB Saunders.*

