

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE INTERVALOS DE REFERENCIA DE BIOQUÍMICA EN  
CANINOS ADULTOS**

**por**

**DA LUZ VIERA, Cindy Sabrina  
ELGUE RICCETTO, Melania**

TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de Doctor  
en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Medicina Veterinaria

**MODALIDAD: ESTUDIO DE CASO**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2019**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

\_\_\_\_\_  
Dra. Claudia Della Cella

Segundo miembro (Tutor):

\_\_\_\_\_  
Dr. Pedro Martino

Tercer miembro:

\_\_\_\_\_  
Dra. Paula Pessina

Cuarto miembro:

\_\_\_\_\_  
Dra. Patricia Lindiman

Quinto miembro:

\_\_\_\_\_  
Dr. Fernando Vila

Fecha:

12/12/2019

Autores:

\_\_\_\_\_  
Br. Cindy Sabrina da Luz Viera

\_\_\_\_\_  
Br. Melania Elgue Riccetto

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestro tutor, el Dr. Pedro Martino y nuestra co-tutora, la Dra. Patricia Lindiman y el co-tutor, Dr. Fernando Vila, por la paciencia, dedicación y comprensión.

A todos los integrantes del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria UdelaR, por la disposición y colaboración en cada una de las etapas de esta tesis.

A nuestra gran casa de estudio la Facultad de Veterinaria.

A nuestras familias, parejas y amigos pilares fundamentales en nuestras vidas y apoyo incondicional en toda la carrera.

A los propietarios de las mascotas y clínicas particulares por confiar en nosotros, su amabilidad y contribución en este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	5
RESUMEN .....	7
SUMMARY .....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	10
Intervalos de referencia .....	10
Concepto.....	10
Nomenclatura: otros términos y definiciones de importancia.....	10
La necesidad de intervalos de referencia .....	10
Uso y propósito.....	11
Selección de individuos de referencia.....	11
Variables que afectan los resultados .....	11
Interferencias preanalíticas .....	11
Interferencias Analíticas .....	13
Interferencias post analíticas.....	13
Procedimientos analíticos .....	13
Análisis estadístico .....	13
Principios de la bioquímica sanguínea .....	14
Interpretación de resultados .....	14
OBJETIVOS.....	28
Objetivo general.....	28
Objetivos específicos.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
Selección e identificación de los individuos de referencia.....	29
Elección del material de punción .....	31
Transporte de la muestra.....	32
Análisis de las muestras .....	32
Análisis estadístico .....	33
RESULTADOS .....	35
Perfil renal.....	37
Perfil muscular .....	40
Glicemia .....	43
Funcional hepático.....	44
Calcio.....	52

DISCUSIÓN.....	54
CONCLUSIONES .....	60
BIBLIOGRAFIA.....	61

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

<i>Figura 1. Hemólisis, lipemia e hiperbilirrubinemia de izquierda a derecha. Fuente Thrall (2012).</i>	12
<i>Figura 2. Escala de condición corporal.....</i>	29
<i>Figura 3. Ficha de identificación del paciente.....</i>	30
<i>Figura 4. Muestras recolectadas en sus correspondientes tubos e identificados.....</i>	30
<i>Figura 5. Sueros obtenidos luego de la centrifugación.....</i>	31
<i>Figura 6 Distribución de la media y el desvío para la urea según la edad.....</i>	38
<i>Figura 7. Distribución de la media y el desvío para la urea según el sexo.....</i>	38
<i>Figura 8. Distribución de la media y el desvío para la creatinina según la edad.....</i>	39
<i>Figura 9. Distribución de la media y el desvío para la creatinina según el sexo.....</i>	39
<i>Figura 10. Distribución de la media y el desvío para el fósforo según la edad.....</i>	40
<i>Figura 11. Distribución de la media y el desvío para el fósforo según el sexo.....</i>	40
<i>Figura 12. Distribución de la media y el desvío para la ast según la edad.....</i>	41
<i>Figura 13. Distribución de la media y el desvío para la ast según el sexo.....</i>	41
<i>Figura 14. Distribución de la media y el desvío para la LDH según la edad.....</i>	42
<i>Figura 15. Distribución de la media y el desvío para la LDH según el sexo.....</i>	42
<i>Figura 16. Distribución de la media y el desvío para la CPK según la edad.....</i>	43
<i>Figura 17. Distribución de la media y el desvío para la CPK según el sexo.....</i>	43
<i>Figura 18. Distribución de la media y el desvío para la Glicemia según la edad.....</i>	44
<i>Figura 19. Distribución de la media y el desvío para la Glicemia según el sexo.....</i>	44
<i>Figura 20. Distribución de la media y el desvío para la Albúmina según la edad.....</i>	45
<i>Figura 21. Distribución de la media y el desvío para la Albúmina según el sexo.....</i>	45
<i>Figura 22. Distribución de la media y el desvío para las globulinas según la edad.....</i>	46
<i>Figura 23. Distribución de la media y el desvío para las globulinas según el sexo.....</i>	46
<i>Figura 24. Distribución de la media y el desvío para las proteína totales según la edad.....</i>	47
<i>Figura 25. Distribución de la media y el desvío para las proteínas totales según el sexo.....</i>	47
<i>Figura 26. Distribución de la media y el desvío para la alt según la edad.....</i>	48
<i>Figura 27. Distribución de la media y el desvío para la alt según el sexo.....</i>	48
<i>Figura 28. Distribución de la media y el desvío para la FAS según la edad.....</i>	49
<i>Figura 29. Distribución de la media y el desvío para la FAS según el sexo.....</i>	49
<i>Figura 30. Distribución de la media y el desvío para el colesterol según la edad.....</i>	50
<i>Figura 31. Distribución de la media y el desvío para el colesterol según el sexo.....</i>	50
<i>Figura 32. Distribución de la media y el desvío para la bilirrubina según la edad.....</i>	51
<i>Figura 33. Distribución de la media y el desvío para la bilirrubina según el sexo.....</i>	51
<i>Figura 34. Distribución de la media y el desvío para la GGT según la edad.....</i>	52
<i>Figura 35. Distribución de la media y el desvío para la GGT según el sexo.....</i>	52

*Figura 36. Distribución de la media y el desvío para el calcio según la edad. ....53*  
*Figura 37. Distribución de la media y el desvío para el calcio según el sexo.....53*

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar los intervalos de referencia (IR) de bioquímica en perros adultos clínicamente sanos para el Laboratorio de Análisis Clínicos de Facultad de Veterinaria. Fueron utilizados en este estudio un total de 213 perros, 121 hembras y 92 machos, de 1 a 10 años, divididos en 3 franjas etarias, y de diversas razas. Los analitos estudiados fueron: Urea, Creatinina, Fósforo, LDH, CPK, AST, Glicemia, Albúmina, Globulinas, Proteínas totales, ALT, FAS, Bilirrubina total, GGT y Calcio. Estos analitos fueron procesados por el equipo Wiener Lab CB350i. Para el análisis de datos estadísticos primariamente se eliminaron los valores atípicos y luego mediante estadística descriptiva obtuvimos los intervalos de referencia. Se evaluaron las posibles diferencias estadísticas que podrían estar presentes dependiendo de la edad (test ANOVA) y del sexo (test Student). Los resultados evidenciaron que el sexo influyó en los valores de Glicemia y GGT. Con respecto a las edades en los valores de la GGT, mostró ser menor en adultos más jóvenes en comparación con los adultos y gerontes ( $P= 0,03$ ) y en cuanto al sexo, es mayor en los machos ( $P=0,0045$ ). Las Globulinas se vieron aumentadas con la edad, con respecto a las demás categorías ( $P=0,062$ ). La Glicemia mostró ser más elevada en machos ( $P=0,03$ ).

Nuestro trabajo concluyó, contemplando algunas diferencias observadas, que los intervalos estimados para nuestro laboratorio se asemejan a los consultados por la bibliografía internacional. Además, se resalta la importancia de haber obtenido para el Laboratorio de Análisis Clínicos contar con valores propios obtenidos a partir de una población de caninos local y en condiciones ambientales propias.

## SUMMARY

The objective of this work was to determine the reference intervals of biochemistry in clinically healthy adult dogs for the Laboratory of Clinical Analysis of the Veterinary Medicine School. A total of 213 dogs, 121 females and 92 males, 1 to 10 years old, divided into 3 age groups, and of various breeds, were used in this study. The analytes studied were: Urea, Creatinine, Phosphorus, LDH, CPK, AST, Glycemia, Albumine, Globulins, Total Proteins, ALT, FAS, Total bilirubin, GGT and Calcium. These analytes were processed by the Wiener Lab CB350i team. For the analysis of primary statistical data, outliers were eliminated and then through descriptive statistics we obtained the reference intervals. Possible statistical differences that could be present specific to age (ANOVA test) and sex (Student test) were evaluated. The results showed that sex influenced the values of Glycemia and GGT. With respect to the ages in the GGT values, they were lower in younger adults in comparison with adults and elderly ( $P = 0.03$ ) and in terms of sex, it is higher in

males ( $P = 0,0045$ ) Globulins were increased with age, with respect to the other categories ( $P = 0,062$ ). Glycemia was shown to be higher in males ( $P = 0,03$ ).

Our work concluded, contemplating some observed differences, that the estimated intervals for our laboratory resemble those consulted by the international literature. In addition, we highlight the importance of having obtained for the Clinical Analysis Laboratory having their own values from a population of local canines and in their own environmental conditions



## INTRODUCCIÓN

En el pasado el término “valores normales” se utilizaba frecuentemente para caracterizar los valores de individuos sanos. Sin embargo, la palabra “normal” conduce a confusión, ya que, en el contexto de la química clínica representa tanto al individuo normal (sano) como a la distribución normal (Todd, 1984; Solberg, 1987).

Algunos autores fueron los responsables de redefinir los términos para darle un enfoque más acertado. Martin (1975), revisó las bases matemáticas de las primeras aplicaciones de los valores normales. Tanto Galen (1977) como Grasbeck (1969) proponen utilizar el término valores de referencia como alternativa a “valores normales” y recomendó la abolición de este último ya que resulta ambiguo e imposible de definir (Todd, 1984).

Debido a la concientización en cuanto a los cambios biológicos existentes en los individuos en procesos tanto fisiológicos como patológicos, surge como requisito una interpretación más precisa y comprensible. Tomando en consideración esos procesos, se vio la necesidad de evaluar la generación y aplicación de los intervalos de referencia que fueran apropiados para una variedad de situaciones. Por lo tanto, es una tarea importante para los químicos clínicos y hematólogos proporcionar valores de referencia confiables (Solberg, 1987).

Los valores de referencia, que primariamente fueron introducidos como una filosofía, han ganado aceptación universal como una de las herramientas más poderosas de la medicina laboratorial para auxiliar en el proceso clínico de toma de decisiones (Geffré y col., 2009)

Idealmente, los intervalos de referencia deben ser establecidos por cada laboratorio, ya que dependen del equipamiento y reactivos utilizados. Por este motivo, los intervalos de referencia pueden variar considerablemente de un laboratorio a otro. Cuando la especie en cuestión no tiene un intervalo de referencia basado en la población establecidos por el propio laboratorio, tenemos que confiar en la información publicada si la hubiera, como guía para interpretar los resultados (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

Motivados por esa necesidad, surge la iniciativa de establecer en la presente tesis los intervalos de referencia propios para el Laboratorio de Análisis Clínicos de Facultad de Veterinaria de la UdelaR. Identificando la importancia que estos adquieren, basados en una población canina local, utilizando equipamientos propios, con métodos y reactivos específicos. Logrando de esta forma mejorar su eficiencia y una mayor calidad para el servicio veterinario.

## REVISION BIBLIOGRAFICA

### Intervalos de referencia

#### Concepto

El concepto de valores de referencia fue introducido en 1969 por Grasbeck y Saris para describir las fluctuaciones de las concentraciones de analitos en la sangre en grupos de individuos bien caracterizados. Se pretendía reemplazar un concepto más ambiguo de valores normales (Geffré y col., 2009).

Los valores de referencia pueden definirse como un grupo de valores de una cantidad medida obtenida a partir de un grupo de individuos (o de un solo individuo) en un estado definido de salud (Todd, 1984).

#### Intervalos de referencia:

Es el intervalo que está comprendido por un límite inferior y superior de referencia, en el cual estos valores se encuentran incluidos (Stockham y Scott, 2008; Solberg 1987). Thrall los define como valores que abarcan la media del 95% de una población de animales aparentemente sanos. De esta definición se desprende inherentemente que el 2.5% de la población saludable tendrá valores fuera de ambos lados de la media del 95%, lo que sugiere que son anormales (Thrall, 2012).

#### **Nomenclatura: otros términos y definiciones de importancia.**

Individuo de referencia: es aquel animal seleccionado, utilizando criterios bien definidos, para ser evaluados posteriormente, en los que se asume que son sanos. Aunque la definición de salud sea difícil de determinar, se deben usar criterios de inclusión y exclusión precisos para aproximarnos a este estado (Geffré y col., 2009).

Población de referencia: es un grupo que contiene todos los posibles individuos de referencia (Geffré y col., 2009).

Grupo de muestra de referencia: es un número adecuado de animales seleccionados para representar a la población de referencia (Geffré y col., 2009).

Distribución de referencia: es la distribución de los valores de referencia. (Geffré y col., 2009).

Límites de referencia: son valores que se derivan de la distribución de referencia y tienen propósitos descriptivos (Geffré y col., 2009).

Valor observado: o resultado obtenido de un paciente, es el valor que vamos a comparar con los valores de referencia, distribuciones de referencia, límites de referencia e intervalos de referencia (Geffré y col., 2009).

#### **La necesidad de intervalos de referencia**

Los intervalos de referencia son parte de las pruebas de laboratorio y herramientas que tiene el clínico para la toma de decisiones médicas, ya sea para instaurar un tratamiento y/o para establecer un diagnóstico. Es por esto que la correcta elaboración y análisis de los intervalos de referencia es sumamente importante (Friedrichs y col., 2012; Horn y Pesce, 2003).

## **Uso y propósito**

Inicialmente se debe definir el propósito y el uso previsto de los valores de referencia que se van a producir. Por lo general se colectan dichos valores de referencia para permitir la evaluación de valores obtenidos en una situación determinada. Los procedimientos para la producción de estos, deben estar en relación con este propósito y deben ser dependientes al tipo de cantidad medida. Existen factores tales como: variaciones no patológicas, la relación costo beneficio tanto clínica como laboratorial, que van a influir en el procedimiento y uso de los valores de referencia (Solberg, 1987).

### **Selección de individuos de referencia**

En un principio debe ser definido el criterio de salud para poder establecer la población de referencia. Esta población, representará a los animales a partir de los cuales serán analizados los IR. Se deben realizar procedimientos para determinar si los individuos se encuentran en un estado de salud adecuado. Estos pueden incluir, un examen físico y una detallada historia clínica del paciente, o realizar procedimientos más extensos como el análisis de materia fecal, estudios de imagen, etc. Los criterios de exclusión deben ser definidos para saber cuáles serán los animales que no vamos a incluir en el estudio. Algunos criterios de inclusión y exclusión también pueden funcionar como criterios de agrupación (por ejemplo, edad, sexo o estado reproductivo), que permiten unos intervalos de referencia más refinada dentro de los subgrupos (Friedrichs y col; 2012).

Los métodos estándares para determinar intervalos de referencia indican que la población de referencia debería ser de al menos 120 individuos sanos, y utilizando un método no paramétrico con un 95% de nivel de confianza (Horn y col; 2003).

Una forma de mejorar la utilidad de una prueba en este contexto de diagnóstico es estratificar la población de referencia en subgrupos de acuerdo con variables (por ejemplo, edad, sexo, raza, etc.) que se sabe que producen una diferencia significativa en los valores de la prueba. Dentro de un subgrupo, el analito mostrará menos individualidad, y los intervalos de referencia del subgrupo serán más estrechos y, por lo tanto, más propensos a detectar la enfermedad temprana, ya sea en un modo de monitoreo o detección (Gallum G y col. 2008).

### **Variables que afectan los resultados**

Las variables que afectan los resultados pueden clasificarse como preanalíticas, analíticas y post analíticas.

La preparación de individuos de referencia, la recolección, el manejo y el procesamiento de muestras deben realizarse de manera estandarizada y consistente (Friedrichs y col; 2012).

#### **Interferencias preanalíticas**

Son variables asociadas con el paciente, la recolección de muestras y el manejo de las mismas (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

Durante el manejo de las muestras pueden ocurrir diversos errores, dentro de los cuales se encuentran: el incorrecto etiquetado y transcripción de muestras, uso y proporción inadecuada de anticoagulante, transferencia traumática de sangre a tubos que causan hemólisis. Las condiciones inadecuadas de almacenamiento durante el transporte al laboratorio, o antes del análisis, también provocarán alteraciones de la muestra (Thrall, 2012).

La hemólisis, la lipemia y el aumento de la bilirrubina sérica pueden afectar los resultados de los ensayos bioquímicos. Estas pueden semi cuantificarse (leve, moderada, marcada) evaluando visualmente la muestra o cuantificándola con analizadores automáticos (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).



*FIGURA 1. HEMÓLISIS, LIPEMIA E HIPERBILIRRUBINEMIA DE IZQUIERDA A DERECHA. FUENTE THRALL (2012).*

La hemólisis es la lisis de los eritrocitos y la liberación de hemoglobina, esta puede ocurrir en la sangre circulante, durante o después de la extracción de sangre. Una muestra hemolizada generalmente se debe a una recolección o manipulación inadecuada de esta. La hemólisis puede alterar los resultados del ensayo por interferencia de color con los métodos espectrofotométricos (Thrall, 2012).

La lipemia causa turbidez visible del suero, a menudo haciéndolo opaco a la luz transmitida. Esto puede darse en pequeños animales cuando no se les ha realizado el ayuno apropiado antes de la extracción de sangre. También puede ocurrir en síndromes hiperlipidémicos. Esta interferencia con la transmisión de luz puede afectar los ensayos espectrofotométricos. También puede dar como resultado una dilución aparente de sustancias normales (p.ej., electrolitos) en el componente acuoso del suero, lo que resulta en concentraciones falsamente disminuidas (efecto de exclusión iónica).

El aumento de las concentraciones séricas de bilirrubina da como resultado un suero de color amarillo más oscuro que lo normal. Este aumento de color puede interferir con los resultados de los ensayos espectrofotométricos.

Las posibles alteraciones en los resultados de la bioquímica causadas por la hemólisis, la lipemia y la hiperbilirrubinemia varían según la sustancia que se analiza y el método utilizado para el ensayo en sí. Los laboratorios de referencia generalmente pueden proporcionar información específica sobre los efectos de las

variables antes mencionadas en los resultados de las pruebas. Del mismo modo, los fabricantes pueden proporcionar esta información para los laboratorios (Thrall, 2012).

### **Interferencias Analíticas**

Son factores que influyen en el procedimiento analítico, como la precisión y la exactitud del equipo utilizado (Thrall, 2012).

### **Interferencias post analíticas**

Esto implica las diferentes formas en que los datos del laboratorio se presentan, almacenan y transfieren al médico (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### **Procedimientos analíticos**

Las muestras deben analizarse utilizando métodos que se controlan rigurosamente con procedimientos de control de calidad apropiados. Las condiciones para el análisis deben estar bien definidas para reducir la variación que no se deba a variabilidad inter o intra individual. Sin embargo, la variación que forma parte de las operaciones diarias, como los cambios en los lotes de reactivos y el personal técnico, debe integrarse en los estudios de IR siempre que sea posible para aproximarse a las condiciones normales de trabajo. El laboratorio debe establecer una política de presentación para las muestras de estudio de IR y los criterios de rechazo debido a la mala calidad de la muestra. Los resultados deben monitorearse en tiempo real para que se puedan detectar errores y cuando sea posible volver a medirlos; esto evitará el rechazo excesivo de muestras al reducir el número de posibles valores atípicos. Los detalles de los métodos analíticos, incluida la marca y el modelo del analizador, así como la fuente de los reactivos y los materiales de control de calidad, deben registrarse (Friedrichs y col; 2012). La evaluación del desempeño analítico es una parte integral del desarrollo del método, la validación de este y el Control de calidad en laboratorios de diagnóstico (Kjelgaard-Hansen; 2010).

### **Análisis estadístico**

Existen varios métodos estadísticos para establecer intervalos de referencia. El método de usar la media  $\pm$  dos desviaciones estándar ( $2 \pm DS$ ) se usó históricamente para definir la mediana del 95% de la población analizada, pero esto solo es válido si los resultados de la prueba tienen una distribución normal o gaussiana. Hoy por hoy se piensa que la mayoría de los datos de pruebas de laboratorio no se distribuyen normalmente. Una solución simple es derivar intervalos de referencia utilizando una técnica no paramétrica. Con los métodos no paramétricos, todos los valores de prueba están ordenados por rango, se eliminan los valores atípicos y, a continuación, el 95% intermedio de los resultados de la prueba define el intervalo de referencia. Como ejemplo, para una población de 120 resultados ordenados por rango, se eliminan los 3 más bajos y los 3 más altos ( $2.5\% \times 120 = 3$ ) y los resultados restantes definen la mediana del 95% de la población. Algunos valores de

la población de la muestra aparentemente sana podrían ser marcadamente más altos o más bajos que la mayoría de los otros valores. Estos valores extremos se conocen como valores atípicos y son probablemente indicativos de enfermedades ocultas. Si se incluyen valores atípicos en los valores muestreados cuando se calculan los intervalos, estos ampliarán los intervalos de referencia, lo que hará que la prueba sea menos sensible para la detección de animales no sanos (Thrall, 2012).

Existen otros métodos para la detección de valores atípicos que son comúnmente utilizados en los estudios de IR. Son el rango estadístico de Dixon<sup>23</sup> y el algoritmo de Horn que usa las cercas intercuartílicas de Tukey<sup>24</sup> (Friedrichs y col; 2012)

La experiencia clínica también debe usarse para determinar cuándo retener o eliminar ciertos valores (Friedrichs y col; 2012).

### **Principios de la bioquímica sanguínea**

Las interpretaciones de los resultados de las pruebas de bioquímica nos proveen información acerca de varios órganos del cuerpo y nos brindan pistas o incluso son una herramienta definitiva a la hora de concluir un diagnóstico. Deberíamos interpretar estas pruebas siempre en conjunto con los datos del paciente (historia, signos clínicos, resultados de otras pruebas diagnósticas), con el fin de tener un panorama completo y certero de este (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

Los veterinarios utilizan la química clínica y otras pruebas de laboratorio para diagnosticar enfermedades, monitorear la progresión de la enfermedad o la respuesta a la terapia, y para detectar la presencia de una enfermedad subyacente en animales aparentemente sanos. Los laboratorios de patología clínica ofrecen una amplia variedad de pruebas de química clínica para este fin (los laboratorios difieren en la combinación de pruebas y paneles de pruebas que se ofrecen a sus clientes). Estos perfiles incluyen pruebas de uso rutinario que se usan con frecuencia para ayudar al veterinario a evaluar la presencia de enfermedades en la mayoría de los sistemas corporales (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

La capacidad de interpretar datos de laboratorio se basa en el conocimiento sobre los mecanismos fisiológicos que subyacen en cada prueba. Esto permite reconocer los efectos de las enfermedades en los resultados obtenidos. Si se realizan correctamente las pruebas de laboratorio, la interpretación de los datos puede proporcionar información importante sobre las enfermedades y las respectivas opciones terapéuticas (Thrall, 2012).

### **Interpretación de resultados**

Para facilitar la interpretación, las pruebas de bioquímica se pueden agrupar en función del sistema corporal o del proceso fisiológico. Agrupar las pruebas, es la mejor manera de interpretar los datos de bioquímica, ya que permite el reconocimiento de patrones. También puede ayudar a detectar la presencia de enfermedades en ciertos sistemas del cuerpo.

La siguiente es una forma de agrupar las distintas pruebas:

## **Minerales**

### **Calcio**

Alrededor del 99% del calcio se encuentra como hidroxapatita en el hueso, y el 1% restante en suero o plasma. Este mineral, está particularmente involucrado en la función muscular y nerviosa (canales de calcio). Los principales órganos implicados en la homeostasis del calcio, son el intestino y los riñones, y las principales hormonas para la regulación de su metabolismo son la hormona paratiroidea (PTH), 1,25 dihidroxivitamina D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) y la calcitonina. El calcio ionizado libre o el calcio unido al anión se filtra a nivel renal, a través del glomérulo. La mayor parte del calcio filtrado (alrededor del 60%) se reabsorbe en los túbulos contorneados proximales junto con el sodio, esta se realiza de forma pasiva. El control de la excreción renal se produce en la extremidad ascendente del asa de Henle (25%) y los túbulos distales (alrededor del 10-15%), que contiene receptores para PTH, vitamina D y calcitonina. La PTH estimula la resorción de calcio y la excreción de fosfato, mientras que la vitamina D estimula la absorción de este a nivel intestinal

#### ***Aumentos: Hipercalcemia***

- Artefactos: la elevada concentración de bilirrubina es una de las principales interferencias descritas por Willard y Tvedten, así como también lo es la lipemia y la deshidratación.
- Fármacos: vitamina D, estrógenos, progesterona, etc.
- Patofisiológicas; tumores (linfosarcoma, leucemia linfocítica, mieloma múltiple, adenocarcinoma mamario, etc. Causas menos frecuentes, hiperparatiroidismo primario, falla renal crónica, hipoadrenocorticismos, hipervitaminosis D.

#### ***Disminuciones: Hipocalcemia***

- Drogas: anticonvulsivantes, glucocorticoides, administración de fosfato intravenoso.
- Patofisiológicas: tetania puerperal, falla renal aguda y crónica, hipoparatiroidismo primario. Por lo general presentan una disminución conjuntamente con la albúmina (Willard y Tvedten, 2013 Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Thrall, 2012).

### **Fósforo**

El fosfato corporal total se encuentra principalmente en el hueso (80-85%), con cantidades más pequeñas en el músculo y el líquido extracelular (<1%). El fosfato es el principal anión intracelular. Este interviene en muchos procesos celulares. Es un componente de la capa fosfolipídica de la membrana celular, proteínas metabólicas (por ejemplo, ATP, vías glicolíticas), etc. El fosfato se libera del hueso por la acción de la hormona paratiroidea (PTH), que al mismo tiempo libera calcio. La liberación ósea es promovida por la acidosis, a través de la estimulación de la PTH. Es absorbido en el intestino delgado (especialmente el yeyuno) por difusión pasiva y activa vinculada a los transportadores de sodio. La absorción se ve aumentada por el bajo contenido de calcio en la dieta, el aumento de la acidez de la dieta, la hormona del crecimiento y la vitamina D. La absorción disminuye por los niveles bajos de vitamina D, calcio y fosfato en la dieta y otros compuestos como el hierro y el aluminio (por ejemplo, antiácidos). En cuanto a la excreción, este se excreta

principalmente en la orina (60-90%) en animales monogástricos, y el resto se secreta en las heces (30-40%). El mecanismo principal para regular el fosfato en el cuerpo de los animales monogástricos es regular la cantidad excretada en la orina (principalmente a través de la PTH).

#### ***Aumentos: Hiperfosfatemia***

- Artefactos: la hemólisis puede causar un falso aumento dado por la liberación de fosfato orgánico intracelular en glóbulos rojos, el cual se degrada con el almacenamiento a fosfato inorgánico.
- Fisiológicas: existe un aumento postprandial luego del consumo de carne. Animales más jóvenes presentan valores más altos que adultos.
- Iatrogénicos: con la administración de compuestos o fluidos con altas concentraciones de fósforo.
- Patofisiológicas: la mayor causa de elevación de este analito es debido a una baja tasa de filtración glomerular por insuficiencia renal. Una mayor absorción por parte del intestino y por la translocación entre compartimentos intracelular hacia el extracelular.

#### ***Disminuciones: Hipofosfatemia***

- Fármacos: drogas que aumente la diuresis con pérdida de fosfato a través de la orina (corticoides, diuréticos).
- Patofisiológicas: no son comunes las disminuciones de este ion en pequeños animales. En el caso de que esto ocurra puede deberse a:
  - Disminución de la absorción intestinal: ya sea por deficiencia de vitamina D, o por pérdidas gastrointestinales tales como diarrea y vómitos.
  - Aumento de la excreción urinaria.
  - Hiperparatiroidismo primario por un aumento de excreción dado por la PTH elevada.
  - Hiperadrenocorticismos: puede causar hipofosfatemia ya que los corticoides estimulan la pérdida de fosfatos por vía renal (Willard y Tvedten, 2013; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### **Metabolismo Proteico**

Las proteínas representan una gran cantidad de las sustancias disueltas en plasma/suero. Estas proteínas son un grupo muy heterogéneo de más de mil proteínas individuales, con una variedad de funciones que incluyen el mantenimiento de la presión oncótica, el transporte de sustancias, la coagulación, etc. (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### **Albúmina**

La albúmina es una proteína globular con un peso molecular de 66-69,000 Dalton, la cual se sintetiza en el hígado y se cataboliza en diversos tejidos, los cambios en la concentración de esta pueden ser selectivos afectando únicamente a esta o pueden verse afectadas la albúmina y las globulinas.

#### ***Aumentos: Hiperalbuminemia***

- Artefactos: es mayor en plasma heparinizado, lipemia, marcada hiperglicemia e hiperbilirrubinemia, azotemia, y severa hipernatremia e hipercloremia (Willard, Tvedten, 2012).
- Fisiológicas: La pérdida de fluidos que por lo general también se asocia con el aumento de globulinas



- Drogas: se observó un aumento con la administración de corticoides.
- Patofisiológicas:
  - La causa más común de su incremento es la deshidratación o la contracción del volumen secundaria a una pérdida de fluidos.
  - La disfunción adrenal (Cortright y col; 2014)
  - Carcinoma hepatocelular (Cooper y col, 2009).

### ***Disminuciones: Hipoalbuminemia***

- Fisiológicas: administración excesiva de fluidos.
- Patofisiológicas:
  - Disminución de la producción de albúmina por: malnutrición, malabsorción, maldigestión, falla hepática crónica, respuesta de reacción de fase aguda dada por traumas, inflamación, neoplasias.
  - Debido a un aumento de presión oncótica (hipertensión portal, falla cardíaca derecha).
  - Disminución de la albúmina dada por pérdidas: enteropatía perdedora de proteínas, hemorragias (casi siempre se acompaña de pérdidas de globulinas), glomerulopatía perdedora de proteínas, dermatopatías exudativas severas.
  - Secuestro de albúmina en cavidades corporales (peritoneo, pleura).
  - Si la disminución es únicamente de albúminas se debería investigar la función renal ya que se podría asociar a daño glomerular (Willard, Tvedten, 2012).

### **Globulinas**

Las globulinas son un grupo heterogéneo de proteínas de tamaño variable, pero generalmente más grandes que la albúmina. Distintos tipos de globulinas están presentes en el plasma incluidas las inmunoglobulinas (por ejemplo; IgG, IgM, IgA), proteínas de complemento, factores de coagulación, diferentes enzimas, proteínas que transportan lípidos, vitaminas, hormonas, hemoglobina extracelular e iones metálicos (hierro y cobre). La mayoría de las globulinas se producen en el hígado con excepción de las inmunoglobulinas (anticuerpos) que se producen en los tejidos linfoides. Las globulinas generalmente se clasifican como alfa, beta o gamma en función de su movilidad electroforética (Thrall, 2012).

El valor de las globulinas se mide mediante la diferencia de proteínas totales y albumina (Globulinas= Proteínas totales –Albúmina). El principio de este método de cuantificación es el hecho de que todas las proteínas séricas, excepto la albúmina, se consideran globulina. (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### ***Aumentos: Hiperglobulinemia***

Las globulinas totales pueden aumentar en cualquiera o todas las fracciones según lo determinado por electroforesis.

- Artefactos: lipemia, hemólisis (Willard, Tvedten, 2012; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).
- Drogas: Los corticosteroides en los perros causarán un pico agudo casi monoclonal en la región  $\alpha$ -2 debido al aumento de la haptoglobina (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

- Patofisiológicas:

- Las alfa globulinas aumentan en reacción de fase aguda en enfermedades virales, bacterianas, traumáticas, necrosis, neoplasia e inflamación. Tienden a permanecer elevadas en condiciones inflamatorias crónicas así como también en síndrome nefrótico.
- La fracción beta aumenta en situaciones tales como: inflamación, enfermedad hepática activa, dermatopatías supurativas, síndrome nefrótico.
- Las gama globulinas aumentan básicamente en condiciones donde existe respuesta inmune activa resultando en gammopatías policlonales. También se ven aumentos de esta fracción cuando existen neoplasias (mieloma múltiple, linfoma, plasmacitoma extramedular).

### ***Disminuciones: Hipoglobulinemia***

Patofisiológicas:

- Enteropatías perdedoras de proteínas.
- Hemorragias (estarán disminuidas en igual proporción las albúminas).
- Dermatopatías exudativas.
- Hipogammaglobulinemias hereditarias.
- Inmunodeficiencias adquiridas.
- Enfermedades infecciosas (por ejemplo, Distemper).
- Enfermedades parasitarias (por ejemplo, Toxoplasmosis) (Willard, Tvedten, 2012; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### **Proteínas totales**

Las proteínas totales son la concentración de la suma de todas las proteínas séricas individuales (g / dL).

### **Relación albúmina/globulina**

La proporción de albúmina globulina (A: G) es la proporción de albúmina presente en el suero en relación con la cantidad de globulina. La relación se puede interpretar solo a la luz de la concentración de proteína total. (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013)

### **Perfil renal**

Los riñones forman parte del sistema urinario y realizan distintas funciones para el organismo. Entre ellas se incluyen filtración y eliminación de desechos metabólicos, regulación del agua y balance de electrolitos, conservación de nutrientes tales como glucosa y aminoácidos. La medición de urea y creatinina generalmente están incluidos en los perfiles bioquímicos para detectar una disminución en la tasa de filtración glomerular. (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013)

### **Urea**

La mayoría de los desechos nitrogenados están formados por el catabolismo proteico. Los aminoácidos se convierten en urea a través del ciclo de la urea en el hígado, y es el mecanismo principal por el cual las especies de mamíferos excretan

desechos nitrogenados. Es sintetizada por hepatocitos a partir del amoníaco generado por el catabolismo de aminoácidos derivados de la digestión de proteínas en los intestinos o de proteínas de tejidos endógenos, y se excreta por los riñones, el colon, la saliva y el sudor (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

La urea se filtra fácilmente por el glomérulo, es reabsorbida por los túbulos contorneados proximales (aproximadamente el 50 % de esta) y el resto se excreta a través de la orina. Si los riñones no funcionan adecuadamente la urea no es removida del plasma conduciendo por lo tanto a niveles elevados en sangre (Sirois M, 2007).

### ***Aumentos de Urea nitrogenada***

-Artefactos: severa ictericia, hemólisis.

-Patofisiológica:

- Disminución de la tasa de filtración glomerular.
- Por incremento del catabolismo proteico: fiebre, corticosteroides, quemaduras, ejercicio, inanición.
- Por el aumento de la digestión de proteínas: aumento de la ingesta dietética de proteínas o hemorragia en el tracto gastrointestinal.
- Azotemia (pre renal, renal, pos renal) (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### ***Disminuciones de Urea nitrogenada***

- Artefactos: lipemia

- Patofisiológica:

- Por bajo consumo de proteínas (dieta restringida en esta).
- Por una mayor tasa anabólica (animales jóvenes).
- Excreción aumentada (cualquier causa de poliuria; ej hiperadrenocorticismos, diabetes mellitus).
- Disminución en la producción dada por enfermedad hepática o deficiencia de enzimas en el ciclo de la urea (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### **Creatinina**

La creatinina se produce como resultado del metabolismo muscular normal. Se filtra libremente a través del glomérulo y no se reabsorbe en los túbulos. Por lo tanto, la creatinina se considera un indicador más confiable de tasa de filtración glomerular que la urea nitrogenada.

La urea y la creatinina siempre deben evaluarse en conjunto y en relación a la tasa de filtración glomerular (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013)

### ***Aumentos de Creatinina***

- Artefactos: marcada lipemia, hemólisis severa.
- Fármacos: todo aquel medicamento que cause daño renal, y/o disminuyan la tasa de filtración glomerular puede aumentar la creatinina en suero (ej.,

Anfotericina B, antibióticos aminoglucósidos y drogas antiinflamatorias tales como aspirina e ibuprofeno)

- Fisiológicas: La creatinina suele ser más alta en razas de gran porte debido a una mayor masa muscular al igual que en los perros galgos (Dunlop y col 2011; Misbach y col 2014, Hokamp y Nabity, 2016).
- Patofisiológicas:
  - Disminución en la tasa de filtración glomerular (pre renal, renal o pos renal).
  - Dietas con alto contenido de carne.
  - Miositis aguda y trauma muscular severo (Willard, Tvedten, 2012).

### ***Disminuciones de Creatinina***

- Fisiológicas:
  - Disminución en la masa muscular (inanición y caquexia).
  - Animales más jóvenes tienden a presentar valores más bajos que adultos.
  - Cuando existe mayor tasa de filtración glomerular por ejemplo en la preñez, ya que aumenta el gasto cardiaco.

### **Funcional Hepático**

El hígado interviene en una importante variedad de procesos biológicos que son esenciales para la vida. Estas funciones incluyen el metabolismo de los carbohidratos, lípidos, proteínas, hormonas y vitaminas; desintoxicación y excreción de productos de desecho y otras sustancias tóxicas, digestión (especialmente de grasas) y producción de la mayoría de los factores de coagulación. El hígado tiene una reserva funcional importante, y el 70–80% de la masa hepática funcional debe perderse antes de que ocurra la insuficiencia hepática. Las pruebas para evaluar la integridad y funcionamiento hepático, se agrupan en pruebas de lesión hepática y pruebas de funcionalidad hepática (Thrall, 2012; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

Enzimas séricas que detectan lesión de hepatocitos:

#### **Alanina aminotransferasa (ALT)**

La ALT se encuentra principalmente en el citoplasma (con pequeñas cantidades en las mitocondrias) y, al igual que la AST, requiere el cofactor P5P para una actividad enzimática máxima. Es útil como indicador específico de lesión hepatocelular en perros y gatos. La vida media en suero es de 59 horas en caninos. Después de una lesión hepática aguda, la actividad enzimática sérica alcanza su punto máximo a las 48 horas aproximadamente y luego comienza a disminuir (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013). Disminuye gradualmente en suero dentro de 8 a 15 días luego del cese del proceso patológico (Bellier, 2010). La ALT se encuentra en el hígado, los músculos (cardíaco y esquelético), los riñones y los eritrocitos (en algunas especies). Es bastante específica del hígado en perros, gatos, conejos,

ratas y primates. Es posible que se produzcan algunos aumentos en las enfermedades musculares graves del perro y el gato debido a la liberación de enzimas de este tejido (en esta situación, generalmente se observan mayores aumentos de AST) (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### ***Aumentos de ALT***

- Artefactos: la hemólisis tiene un efecto mínimo en el incremento de la actividad de la ALT en perros.

- Fármacos:

- Anticonvulsivantes (ej. fenobarbital) pueden aumentar hasta 4 veces la actividad de la ALT.
- Corticoides: aumentan de 2 a 3 veces la actividad de la ALT.
- Cualquier medicamento que pueda causar una hepatotoxicidad puede resultar en una mayor actividad de la ALT.

- Patofisiológicos:

Cuando existe daño celular, por el aumento de la permeabilidad de la membrana o necrosis de los hepatocitos.

### **Enfermedad hepática**

- Primaria o secundaria: los mayores incrementos se observan en enfermedades necrotizantes o inflamatorias. Por lo general la actividad de la ALT excede la de la AST en enfermedades hepáticas.
- Obstrucción del conducto biliar u otras causas de colestasis (por efectos tóxicos de sales biliares retenidas en hepatocitos).
- Trauma hepático (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### **Enfermedad muscular,**

- Lesión muscular severa (los aumentos en la actividad de ALT generalmente son menores que los aumentos en la actividad de AST en la enfermedad muscular primaria) (Valentine y col, 1990).

### **Aspartato aminotransferasa (AST)**

Es muy útil como indicadora de daño hepático y/o muscular. Esta enzima tiene una vida media de 22 horas en el canino. No es órgano específica, ya que se encuentra la mayor parte en el músculo esquelético, luego en el hígado y por último en el músculo cardíaco. Los eritrocitos contienen esta enzima en cantidad suficiente como para aumentar su actividad en suero, cuando ocurre hemólisis tanto intravascular como in vitro. También la podemos encontrar en las células del epitelio renal y tejido cerebral. Está localizada tanto en citoplasmas y mitocondrias como también en distintas isoenzimas. Para que ocurra su incremento en citoplasma requiere de daños leves, para que se libere de las mitocondrias precisa un daño mayor.

### ***Aumentos de AST***

- Artefactos: incrementa con la lipemia, con severa hemólisis (por liberación intra eritrocitaria) e ictericia.

-Fármacos:

- Anticonvulsivantes (debido al daño secundario).
- Corticoides (en caso de daño hepatocelular).

-Patofisiológicos:

- Miopatías (trauma muscular, miositis infecciosa, distrofia muscular) en donde también ocurre un incremento de la actividad de la CK. En los perros con lesión muscular, el grado de aumento de AST es mayor que el de la actividad de ALT (esto puede ayudar a discriminar entre lesión hepática y muscular). La AST también permanecerá aumentada cuando son lesiones musculares crónicas.
- Enfermedad hepática este aumento se verá acompañado por el incremento de otras enzimas. (Thrall, 2012; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013, Willard y Tvedten, 2012).

Las siguientes son enzimas indicadoras de colestasis:

### **Fosfatasa alcalina (FAS)**

Consta de un grupo de isoenzimas heterogéneas que catalizan la hidrólisis de los ésteres de monofosfato a pH alcalino (Syakalima, 1998). Esta enzima es una indicadora muy sensible de colestasis en el perro, aumenta incluso antes que la bilirrubina. Las isoenzimas se producen a partir de genes no específicos intestinales y tisulares y difieren en la secuencia de aminoácidos. Las isoformas difieren en sitios catalíticos y actividad, inmunogenicidad y movilidad electroforética. Las principales isoformas que se pueden medir en animales son la FAS hepática (L-ALP), la FAS corticosteroide (C-ALP; solo en perros), la FAS ósea (B-ALP) y la FAS intestinal (I-ALP), pero hay otros que incluyen leucocitos y placentaria. La vida media de la enzima va a depender de la isoforma y de la especie, la isoforma hepática en caninos tiene una vida media de 66 horas al igual que la ósea (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### ***Aumentos de la FAS***

- Artefactos: severa hemolisis

- Fármacos:

- Glucocorticoides (endógenos o exógenos) estimulan la isoforma ósea, pueden aumentarla hasta 10 veces el valor normal (Bellier, 2010).
- Anticonvulsivantes, ese incremento es asociado a una mayor inducción de la isoforma hepática (Muller y col, 2000).

- Fisiológicas:

- Edad: se pueden observar elevaciones séricas de FAS, generalmente menos de 3 veces al valor de referencia, en animales en crecimiento normal (hasta 6 a 8 meses de edad) (Bellier, 2010).
- Raza: en los Huskies siberianos este aumento es hereditario, en los terriers escoceses es debido a una disfunción subclínica adrenal, el cual podría ser un defecto genético (Zimmerman y col 2010, Cortright y col 2014).

- Estrés crónico: esto se da únicamente en perros y deben transcurrir 10 días para ser inducida.

- Patofisiológicos:

- Colestasis
- Injuria y neoplasia hepática
- Hiperadrenocorticismismo y disfunción adrenal
- Neoplasias
- Actividad osteoblástica aumentada (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### **γ-glutamilttransferasa (GGT)**

En el hígado, se encuentra principalmente en las células epiteliales biliares, en pequeñas cantidades en las superficies canaliculares y sinusoidales de los hepatocitos (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### ***Aumentos de la GGT***

Patofisiológicos:

- Hiperplasia biliar y colestasis.
- El calostro y la leche en las primeras etapas de la lactancia tienen una alta actividad de esta, como resultado, el recién nacido puede tener una alta actividad de GGT circulante (Bellier, 2010).

Las siguientes sustancias se eliminan normalmente de la sangre por el hígado y luego se metabolizan o se excretan a través del sistema biliar: bilirrubina, ácidos biliares, amoníaco, colesterol -Sustancias que normalmente se sintetizan en el hígado: albúmina, globulinas, urea, colesterol, factores de coagulación (Thrall, 2012).

### **Bilirrubina**

La medición de este analito es utilizada como marcador de enfermedad hepática (con y sin colestasis) y también como apoyo para la detección de anemia hemolítica (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013). Otra de las indicaciones más comunes de la medición de la bilirrubina, es en el caso de las ictericias (Willard y Tvedten, 2012).

La mayoría de la bilirrubina (80%) se produce a partir de la degradación de la hemoglobina de los eritrocitos que experimentan una destrucción normal (eliminación de células envejecidas o alteradas) o anormal (es decir, hemólisis intravascular o extravascular). Un pequeño porcentaje (20%) se deriva del catabolismo de varias hemoproteínas hepáticas.

La bilirrubina se excreta, junto con las sales biliares (y sodio) en el intestino, donde las sales biliares forman micelas que facilitan la absorción de grasa. Debido a que la bilirrubina conjugada es hidrofílica, no puede ser absorbida a través de la barrera epitelial intestinal. En el intestino, las enzimas bacterianas e intestinales reducen la

bilirrubina conjugada a urobilinógeno. Las enzimas bacterianas también pueden desconjugar la bilirrubina y la bilirrubina no conjugada también puede ser absorbida.

La medición de fracciones de bilirrubina directa (conjugada) e indirecta (no conjugada) no es útil porque las enfermedades del tracto hemolítico, hepático y biliar tienen una variación impredecible en la cantidad de cada fracción.

La bilirrubina total se mide en suero o plasma heparinizado mediante métodos espectrofotométricos y reactivos secos (Willard y Tvedten, 2012).

### ***Aumentos: Hiperbilirrubinemia***

- Fármacos: aquellos que causan anemia hemolítica o necrosis o disfunción hepática aguda.
- Patologías:
  - Enfermedades hemolíticas
  - Enfermedades hepatobiliares: el aumento a menudo ocurre después de que se observan aumentos en las enzimas "colestáticas" (GGT, FAS) debido al bajo umbral renal de la bilirrubina (Willard y Tvedten, 2012).

### ***Diminuciones: Hipobilirrubinemia***

- Artefactos: La exposición a la luz solar brillante o la iluminación fluorescente puede disminuir la bilirrubina en un 50% por hora (Willard y Tvedten, 2012).

-Fármacos: por medicamentos que causan la inducción de enzimas hepáticas (p. ej., Fenobarbital) (Willard y Tvedten, 2012).

## **Colesterol**

Es el esteroide más común, es un precursor importante de los ésteres de colesterol, los ácidos biliares y las hormonas esteroideas. Se deriva de fuentes dietéticas y se sintetiza in vivo a partir de acetil-CoA en el hígado (sitio principal) y otros tejidos (intestinos, glándulas suprarrenales y órganos reproductivos). La medición del colesterol puede dar una indicación de la función hepática, enfermedad gastrointestinal y trastornos metabólicos. La hipercolesterolemia por sí sola no causa lipemia macroscópica.

### ***Aumentos: Hipercolesterolemia***

- Artefactos: la hemólisis puede causar un falso aumento.
- Fisiológicos: moderados aumentos son observados luego de comer, sin embargo esos aumentos no suelen sobrepasar el límite de referencia.
- Patofisiológicos:
  - Síndrome nefrótico.
  - Hipotiroidismo.
  - Colestasis.
  - Diabetes mellitus.
  - Hiperadrenocorticismos.
  - Pancreatitis.
  - Desórdenes del metabolismo lipídico hereditarios.

### ***Diminuciones: Hipocolesterolemia***



- Artefactos: severa ictericia
- Patofisiológicos;
  - Disminución de la absorción (enteropatías perdedoras de proteínas, insuficiencia pancreática exócrina).
  - Enfermedades hepáticas: insuficiencia hepática tanto aguda como crónica (p.ej., Cirrosis) y derivaciones portosistémicas (adquiridas o congénitas).
  - Metabolismo alterado: por citocinas inflamatorias o por una mayor absorción de lipoproteínas (Willard y Tvedten, 2012; Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

## **Metabolismo Energético**

La utilización de energía involucra el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Por lo general el metabolismo de carbohidratos predomina, pero en estados de balance energético negativo, el metabolismo lipídico pasa a ser el dominante (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

## **Glucosa**

La glucosa se deriva de la digestión de los carbohidratos de la dieta, de la descomposición del glucógeno en el hígado (glucogenólisis) y a partir de los precursores de aminoácidos en el hígado (gluconeogénesis). El riñón también puede estar involucrado en la gluconeogénesis para la obtención de glucosa.

### ***Aumentos: Hiperglicemia***

- Artefactos: la lipemia, la hemólisis y la ictericia apenas alteran su valor.
- Fármacos: infusión intravenosa de fluidos que contienen dextrosa y soluciones nutricionales parenterales), medicamentos diabetógenos (por ejemplo, glucocorticoides, acetato de megestrol).
- Patofisiológicas:
  - Luego del consumo de alimentos que contienen grandes cantidades de monosacáridos, disacáridos o xilitol.
  - Estrés.
  - Diabetes mellitus.
  - Trastornos que disminuyen la efectividad de la insulina.
  - La obesidad.
  - Inflamación crónica (pancreatitis, enfermedad gingival, enfermedad inflamatoria intestinal).
  - Hiperadrenocorticismos.
  - Diestro.
  - Infecciones concurrentes (Willard y Tvedten, 2012).

### ***Disminuciones: Hipoglicemia***

- Fármacos: insulina, medicamentos hipoglucemiantes orales (por ejemplo, sulfonilureas, biguanidas, corticosteroides, glucagón, levotiroxina, progestágenos, estrógenos y xilitol).
- Patofisiológicas:
  - Hiperinsulinismo ( uso excesivo de glucosa por células normales)

- Neoplasias.
- Insuficiencia hepática
- Deficiencia de hormonas diabetogénicas,
- Inadecuada ingesta de glucosa y otros sustratos necesarios para la gluconeogénesis hepática (p. ej., inanición en neonatos).
- Sepsis.
- Hipoglucemia iatrogénica, es un problema común con la administración excesiva de insulina a los diabéticos.
- Hipoadrenocorticismo (Willard y Tvedten, 2012).

### **Perfil muscular**

A pesar de que se pueden utilizar otras pruebas para evaluar función muscular y nerviosa, existen marcadores de injuria muscular que son medidas rutinariamente en el laboratorio. Indicadores de lesión muscular: Creatin kinasa (CK), AST, ALT, LDH. (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### **Creatin Kinasa (CK)**

La creatin kinasa (CK) es una enzima que se encuentra presente en concentraciones altas en el músculo esquelético, el músculo cardíaco, el músculo liso y el cerebro, en menores cantidades en varios órganos como el intestino, el hígado y el bazo. Se encuentra libre en el citoplasma de las células musculares. La creatina quinasa se considera una enzima de fuga específica del músculo (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

Puede producirse una actividad falsamente aumentada de CK como resultado de la hemólisis, la hiperbilirrubinemia y la contaminación del fluido muscular de la muestra de sangre durante una punción venosa difícil. En ocasiones, se detectan actividades de CK en suero extremadamente altas ( $> 100 \times \text{URL}$ ) en animales con lesiones musculares (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### ***Aumentos de CK***

- Artefactos: la hemólisis causa un falso incremento. Estos también pueden darse por hiperbilirrubinemia y por la contaminación del fluido muscular de la muestra de sangre durante una punción venosa difícil (Thrall, 2012).
- Fisiológicas: en cachorros sus valores son más altos que en adultos
- Patofisiológicas: en el caso de enfermedad muscular (traumatismos, rabdomiólisis, necrosis, isquemias) pero también leves restricciones físicas e inyecciones causan el aumento de su actividad (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### **Lactato deshidrogenasa (LDH)**

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) se encuentra en el citoplasma de la mayoría de las células del cuerpo. Una lesión en la mayoría de los tejidos provoca la fuga de LDH en el espacio extracelular y la sangre; por lo tanto, la LDH es muy inespecífica (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

#### ***Aumentos de LDH***

- Artefactos: severa lipemia, ictericia, hemólisis (se encuentra en altas concentraciones en los eritrocitos, por lo tanto es una causa común de su aumento en perros).
- Fisiológicas: ejercicio

- Patofisiológicas: injuria hepática y neoplasias (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013)

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar los intervalos de referencia de una serie de analitos (urea, creatinina, fósforo, AST, LDH, CPK, glicemia, albúmina, globulina, proteínas totales, ALT, fosfatasa alcalina, colesterol, bilirrubina total, GGT, calcio) de una población canina sana, siguiendo las técnicas e instrumental del LAC de la FdeV UdelaR.

### **Objetivos específicos**

Observar las variaciones existentes entre las diferentes edades y sexo.

Discutir los intervalos de referencia propios con los determinados por otros laboratorios de referencia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Selección e identificación de los individuos de referencia

Las muestras fueron obtenidas a partir de caninos clínicamente sanos, de 1 a 10 años de edad, de cualquier sexo, raza y condiciones corporales dentro de parámetros saludables 2, 3 y 4 según la escala de 5 puntos de Royal Canin.



FIGURA 2. ESCALA DE CONDICIÓN CORPORAL

Cada paciente contaba con un número único de identificación que fue registrado en una ficha. Se documentó el nombre, raza, edad, estado reproductivo, condición corporal y sexo de cada uno.

NUMERO DE REGISTRO		
NOMBRE		
SEXO		
RAZA		
TAMAÑO		
CONDICION CORPORAL		
EDAD		MESES - AÑOS
OBSERVACIONES		

**FIGURA 3. FICHA DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE**

Se incluyeron en este estudio, animales que no presentaran evidencia de enfermedad (basándonos en la historia clínica y examen físico), y que hubiesen realizado el correcto ayuno de 12 horas. Se excluyeron animales que estuvieran con tratamiento farmacológico, hembras preñadas o que hayan estado en situaciones de mucho estrés previa a la extracción (Saskia y col; 2003; Friedrichs y col; 2012).

Fueron recolectadas 272 muestras y debido a errores pre analíticos se descartaron muestras hemolizadas, lipémicas y coaguladas. También fueron descartados aquellos valores que resultaban atípicos (por fuera del 95% de la media poblacional).



**FIGURA 4. MUESTRAS RECOLECTADAS EN SUS CORRESPONDIENTES TUBOS E IDENTIFICADOS**



*FIGURA 5. SUEROS OBTENIDOS LUEGO DE LA CENTRIFUGACIÓN*

Fueron utilizados en este estudio un total de 213 perros, 121 hembras y 92 machos. Dentro de las razas de los animales seleccionados se incluyen: Labrador retriever, Golden retriever, Caniche, Shih Tzu, Weimaraner, Ovejero alemán, Cocker spaniel Bulldog francés, Bulldog inglés, Beagle, Husky siberiano, Mastín napolitano, Dóberman, Dogo de burdeos, Bóxer, Chihuahua, Dachshund y perros sin raza definida.

Se dividieron en tres franjas etarias para analizar detalladamente las diferencias que pudieran existir entre las distintas edades. La franja etaria uno está conformada por animales de entre 1 a 3 años y ésta cuenta con un total de 84 animales. La segunda franja mayores a 3 hasta 6,5 años con 67 animales y por último una tercera franja constituida por 62 animales mayores de 6,5 hasta 10 años.

### **Elección del material de punción**

Se eligió el diámetro de la aguja acorde al tamaño del paciente y al diámetro del vaso sanguíneo. Normalmente el diámetro rondará entre los 21G y 23G siendo este último utilizado en el caso de animales de pequeño porte. La misma se conectará a una jeringa descartable de 5 ml (Orpet y Welsh, 2011).

Los sitios de elección para la extracción sanguínea incluyen las venas yugular, cefálica y safena lateral (Keller y Wall; 1982). Una vez seleccionada la vena a puncionar, se realizará la tricotomía de la zona y antisepsia con alcohol etílico al 70%. Se aplicará un torniquete o presión (dependiendo de la vena elegida) para lograr la ingurgitación del vaso sanguíneo, el cual debe ser retirado luego de la canalización venosa. No se recomienda la aplicación del torniquete por más de 1 minuto ya que pasado este tiempo puede llevar a hemólisis (Aguilar y Vives, 2006).

Luego de extracción de la muestra aplicaremos presión sobre la zona que hemos puncionado para evitar la formación de un hematoma (Orpet y Welsh, 2011). Inmediatamente luego de la colecta fue colocada la sangre en los tubos secos para mediciones del perfil renal (urea, creatinina y fósforo), perfil muscular (CPK, AST y LDH), funcional hepático (albúmina, globulina, proteínas totales, ALT, AST, FAS, colesterol, bilirrubina total, GGT) y Ca.

Para el ensayo de glucosa se utilizará plasma por lo que elegimos un tubo con EDTA y fluoruro de sodio.

Una vez seleccionados los tubos a utilizar se rotularon los mismos con el nombre del animal, número de registro del individuo y fecha de obtención de la muestra.

Previo a transferir la sangre al tubo fue retirada la aguja de la jeringa y, una vez destapado el tubo, se introdujo la punta de la jeringa apoyándola sobre la pared interna del tubo y, mediante una ligera presión sobre el émbolo, se depositó la sangre en las paredes del tubo (Orpet y Welsh, 2011).

### **Transporte de la muestra**

Se transportaron las muestras al laboratorio a una temperatura aproximada de 4 ° C y contenidas en un recipiente secundario además del recipiente externo, con el objetivo de que la muestra no entrara en contacto directo con los refrigerantes. Cada muestra fue acompañada de su ficha de identificación correspondiente.

### **Análisis de las muestras**

Previo al procesamiento de la sangre, las muestras fueron centrifugadas a 2500 revoluciones/min, durante 15 minutos para poder separar el suero (tubo seco) y el plasma en el caso de la glicemia (tubo con fluoruro de sodio + EDTA). Luego fueron colocadas en tubos eppendorf con el número de identificación y nombre del perro.

Las muestras fueron analizadas mediante el instrumento Wiener lab. CB350i. Este es un instrumento de sobre mesada que cuenta con el Software Nobilis, Windows XP.

Este equipo cuenta con controles de calidad, los cuales se realizan diariamente (Standatrol SE, el cual posee 2 niveles). Además de esto, una vez al mes se calibra el instrumento para todas las técnicas. Por otro lado se realiza un control externo mensualmente (Prevecal; BioSystems), en el cual se detalla la máquina, técnicas, resultados etc., estos datos son comparados con controles y se le otorga al laboratorio un informe.

El siguiente cuadro describe los métodos y fundamentos de medición.



**TABLA 1. CARACTERISTICAS DE CADA PRUEBA DETERMINADAS EN WIENER LAB CB350I**

Parámetro	Método
CALCIO	El calcio reacciona con la o-cresoltalein complexona (ocpc) a pH alcalino, dando un complejo de color magenta que se mide fotocolorimétricamente a 570 nm.
ALT	UV optimizado (IFCC) para la determinación de alanina aminotransferasa (GPT/ALT) en suero o plasma.
AST	UV optimizado (IFCC) para la determinación de aspartato aminotransferasa (GOT/AST) en suero o plasma
CK	UV optimizado (IFCC) para la determinación de creatinin kinasa en suero o plasma.
LDH	Método UV optimizado (SFBC) para la determinación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero o plasma
GGT	Szasz modificado para la determinación de la $\gamma$ glutamil transferasa en suero o plasma. esquema reaccionante: ureasa urea + H <sub>2</sub> O > 2 NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub> GLDH NH <sub>3</sub> + NADH + H <sup>+</sup> + 2-oxoglutarato > l-glutamato + NAD <sup>+</sup> + H <sub>2</sub> O. En suero, orina o plasma
UREA	cinético optimizado (DGKC o SSCC) a 450 nm (ver en laboratorio, no se ve bien) para determinar la fosfatasa alcalina.
ALP	DP para la determinación de bilirrubina total en suero o plasma
BILL TOTAL	DP para la determinación de bilirrubina total en suero o plasma
BILL DIRECTA	enzimático AA para la determinación de colesterol en suero o plasma
COLESTEROL	colorimétrico para la determinación de proteínas totales en suero
PROT TOT	colorimétrico para la determinación de albúmina en suero.
ALBUMINA	UV para la determinación de fósforo inorgánico (Pi) en suero, plasma u orina.
FOSFORO	cinético para la determinación de creatinina en suero, plasma u orina.
CREATININA	Enzimática AA para la determinación de glucosa en suero, plasma, orina u líquido cefalorraquídeo.
GLUCOSA	

### **Análisis estadístico**

En una primera instancia se ingresaron manualmente los datos recabados en una planilla electrónica para su posterior análisis estadístico. En esta fueron ingresados los datos correspondientes a cada variable, teniendo en cuenta un IC 95%.

Para cada analito fueron excluidos los valores considerados atípicos calculados como:  $n \times 2.5\% = \text{total}$ , siendo estos los valores que se encuentran por fuera del IC anteriormente mencionado (Thrall, 2012).

El total de muestras analizadas para cada analito fueron las siguientes: urea (n=202), creatinina (n=212), Fósforo (n=178), AST (n=201), LDH (n=195), CPK (n=201), Glicemia (n=188), Albúmina (n=212), Globulinas (n=200), Proteínas totales (n=202), ALT (n=199), FAS (n=199), Colesterol (n=201), Bilirrubina (n=175), GGT (n=172), Calcio (n=200).

Mediante Microsoft Excel 2010 se realizaron los análisis estadísticos descriptivos, calculando la media como medida de tendencia central y el desvío estándar como medida de dispersión, para cada analito anteriormente mencionado. En este trabajo nos encontramos con variables que tienden a la asimetría, pero debido a que el número de muestras es mayor a 30 en cada grupo, las variables son numéricas y continuas pueden ser tratadas como si tuviesen distribución normal.

Utilizando el método ANOVA determinamos si existían diferencias estadísticamente significativas para las distintas franjas etarias. La primera franja, está constituida por caninos menores o iguales a 3 años, la segunda abarca animales mayores a 3 años hasta 6,5 años y la tercera franja mayores a 6,5 años hasta 10 años inclusive. Consideramos diferencias significativas cuando los analitos presentan para determinada categoría etaria una probabilidad (P) menor o igual a 0,05. Si la P se encuentra entre valores mayores a 0,05 y menores 0,10 hablamos de que existe una tendencia para ese analito entre edades y si P es mayor a 0,10 no hay significancia estadística.

Para poder determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras, fue necesario realizar en primera instancia el test de F (Fisher) para comprobar si las varianzas eran iguales o diferentes. En base a este resultado se realizó el test de T (Student) para varianzas iguales o desiguales. Obtuvimos las probabilidades en dos colas, en cuyos valores nos guiamos para concluir si existían diferencias significativas entre ambos sexos. El criterio para esta decisión fue el mismo que mencionamos anteriormente para los valores de P en ANOVA.

Por último, los límites inferiores y superiores de los intervalos de referencia para cada analito fueron calculados utilizando la media  $\pm$  2DS, utilizando el complemento estadístico de Microsoft Excel 2010.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos han sido ordenados por perfiles y se muestran en los siguientes cuadros:

*TABLA 2. INTERVALOS DE REFERENCIA DEL PERFIL RENAL PARA EL TOTAL DE LA MUESTRA*

PERFIL RENAL		
Analito	L. inferior	L. superior
<i>Urea(mg/dl)</i>	<b>13,44</b>	<b>54,56</b>
<i>Crea(mg/dl)</i>	<b>0,42</b>	<b>1,3</b>
<i>P(mg/dl)</i>	<b>3,08</b>	<b>5,91</b>

*TABLA 3. INTERVALOS DE REFERENCIA DE LA GLICEMIA PARA EL TOTAL DE LA MUESTRA.*

GLICEMIA		
Analito	L. inferior	L. superior
<i>Glicemia</i>	<b>64,14</b>	<b>115,28</b>

*TABLA 4. INTERVALOS DE REFERENCIA DEL PERFIL MUSCULAR PARA EL TOTAL DE LA MUESTRA.*

PERFIL MUSCULAR		
Analito	L. inferior	L. superior
<i>AST(UI/l)</i>	<b>11</b>	<b>58</b>
<i>LDH(UI/l)</i>	<b>2</b>	<b>554</b>
<i>CPK(UI/l)</i>	<b>46</b>	<b>456,42</b>

**TABLA 5. INTERVALOS DE REFERENCIA DEL PERFIL HEPÁTICO DEL TOTAL DE LA MUESTRA.**

<b>PERFIL HEPÁTICO</b>		
Analito	L. inferior	L. superior
<i>Alb(g/dl)</i>	<b>2,7</b>	<b>4</b>
<i>Glob(g/l)</i>	<b>2</b>	<b>4,36</b>
<i>PT(g/dl)</i>	<b>5,48</b>	<b>7,72</b>
<i>AST(U/l)</i>	<b>11</b>	<b>58</b>
<i>ALT(U/l)</i>	<b>5,36</b>	<b>114</b>
<i>FAS(U/l)</i>	<b>20</b>	<b>260</b>
<i>Col (mg/dl)</i>	<b>92</b>	<b>302</b>
<i>Bill T(mg/dl)</i>	<b>0,11</b>	<b>0,36</b>
<i>GGT(U/L)</i>	<b>1,24</b>	<b>7,24</b>

**TABLA 6. INTERVALO DE REFERENCIA DEL CALCIO PARA EL TOTAL DE LA MUESTRA**

<b>CALCIO</b>		
Analito	L. inferior	L. superior
<i>Calcio (mg/dl)</i>	<b>6,14</b>	<b>11,46</b>

Intervalos de referencia para analitos influenciados por el sexo:

**TABLA 7. INTERVALOS DE REFERENCIA DE GLICEMIA SEPARADOS POR SEXO**

<b>GLICEMIA (mg/dl)</b>		
	L. inferior	L. superior
♀	<b>61</b>	<b>115,2</b>
♂	<b>68,73</b>	<b>114,8</b>

**TABLA 8. INTERVALOS DE REFERENCIA DE GGT SEPARADOS POR SEXO**

<b>GGT (UI/L)</b>		
	L. inferior	L. superior
♀	<b>1,57</b>	<b>6,91</b>
♂	<b>0,58</b>	<b>7,62</b>

Intervalos de referencia para analitos influenciados por edades:

**TABLA 9. INTERVALOS DE REFERENCIA DE LA GGT SEPARADOS POR CATEGORÍA ETARIA**

<b>GGT (UI/L)</b>		
Edades	L. inferior	L. superior
Categoría 1	<b>1,9</b>	<b>7,22</b>
Categoría 2	<b>0,56</b>	<b>6,44</b>
Categoría 3	<b>0,71</b>	<b>8,01</b>

**TABLA 10. INTERVALOS DE REFERENCIA DE LAS GLOBULINAS SEPARADOS POR CATEGORÍA ETARIA**

<b>Glob (g/l)</b>		
Edades	L. inferior	L. superior
Categoría 1	<b>2,06</b>	<b>4,14</b>
Categoría 2	<b>1,91</b>	<b>4,51</b>
Categoría 3	<b>2,34</b>	<b>4,5</b>

## **Perfil renal**

### Urea

No se observaron diferencias estadísticas significativas entre edades ni entre sexos. En los más jóvenes la media fue de  $34,79 \pm 9,7$ , en los adultos entre 3,5 y 6,5 años la media fue de  $34,70 \pm 9,6$ , y en los mayores de 6,5 la media fue de  $34,20 \pm 11,8$ . ( $P=0,94$ ). En los machos la media fue de  $34,14 \pm 9,8$ , y en las hembras  $34,98 \pm 10,68$ , siendo  $P=0,28$ .

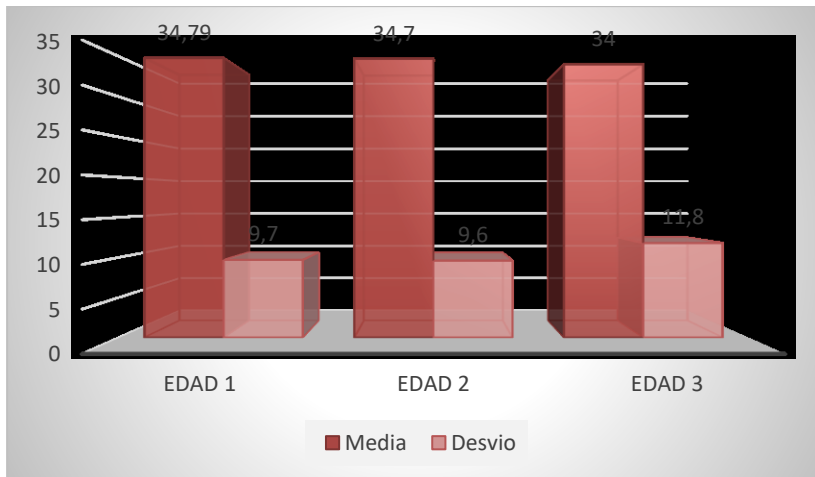


FIGURA 6 DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA UREA SEGÚN LA EDAD.

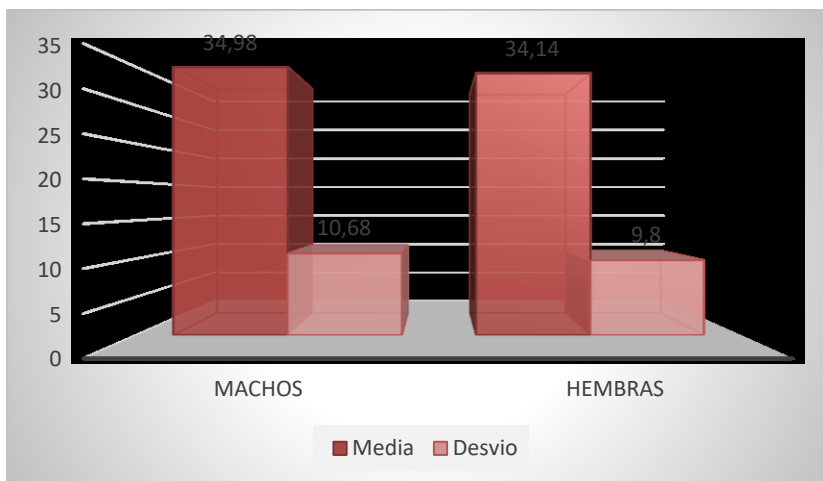
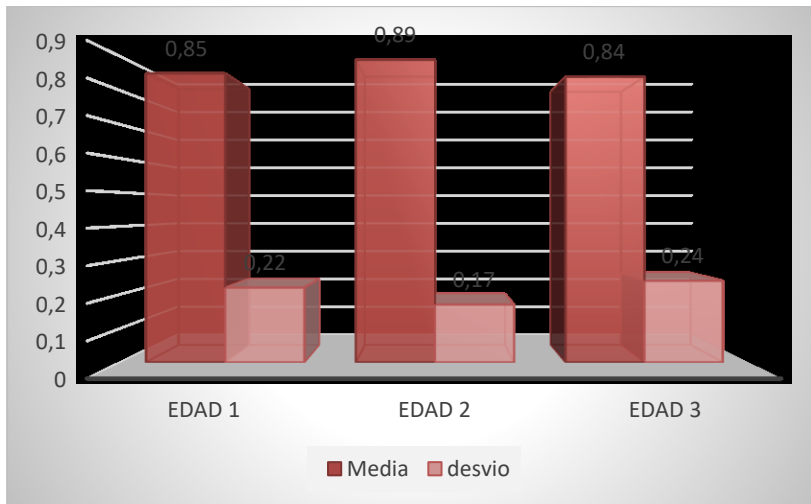


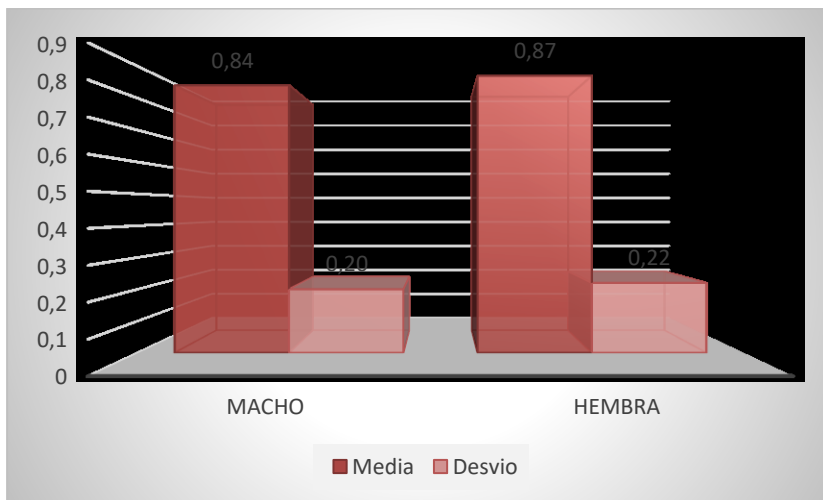
FIGURA 7. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA UREA SEGÚN EL SEXO

### Creatinina

Ni el sexo ni las edades tuvieron efectos significativos en los valores de la creatinina. En la primer franja etaria la media fue de  $0,85 \pm 0,22$ , en la segunda franja etaria la media fue de  $0,89 \pm 0,17$ , y en la tercer franja fue de  $0,84 \pm 0,24$  ( $P=0,29$ ). Los machos tuvieron una media de  $0,84 \pm 0,20$  y las hembras una media de  $0,87 \pm 0,22$  ( $P=0,20$ ).



**FIGURA 8. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA CREATININA SEGÚN LA EDAD.**



**FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA CREATININA SEGÚN EL SEXO.**

### Fósforo

No se encontró efecto significativo en cuanto a sexo ni edad. En la edad 1 la media fue de  $4,56 \pm 0,72$ , en edad 2 fue de  $4,46 \pm 0,78$  y en la edad 3 de  $4,49 \pm 0,61$ . Con una P de 0,74. En machos la media fue de  $4,48 \pm 0,75$ , y para las hembras  $4,52 \pm 0,68$  (P= 0,35).

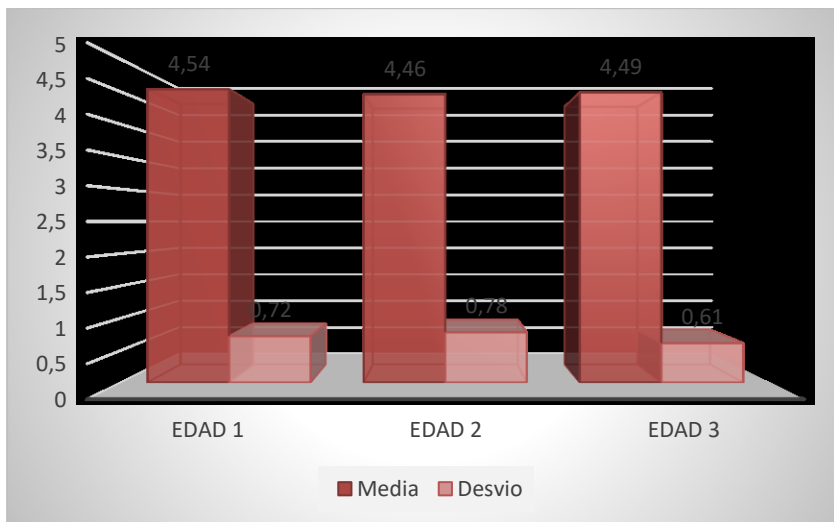


FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA EL FÓSFORO SEGÚN LA EDAD.

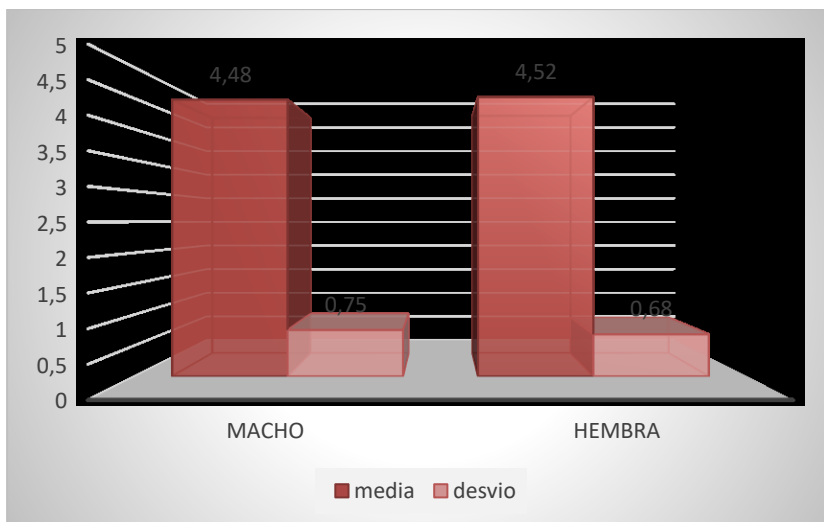


FIGURA 11. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA EL FÓSFORO SEGÚN EL SEXO.

## Perfil muscular

### AST

En los menores o iguales a 3 años la media fue  $36,23 \pm 12,21$ , entre los mayores de 3,5 y 6,5 años la media fue  $33,72 \pm 11,16$ , y en mayores de 6,5 años la media fue de  $32,93 \pm 11,57$  ( $P=0,21$ ). En los machos la media fue de  $35,39 \pm 12,70$ , y en hembras fue de  $33,73 \pm 11$  y la  $P=0,16$ . Por lo tanto no hubo efecto significativo estadístico.



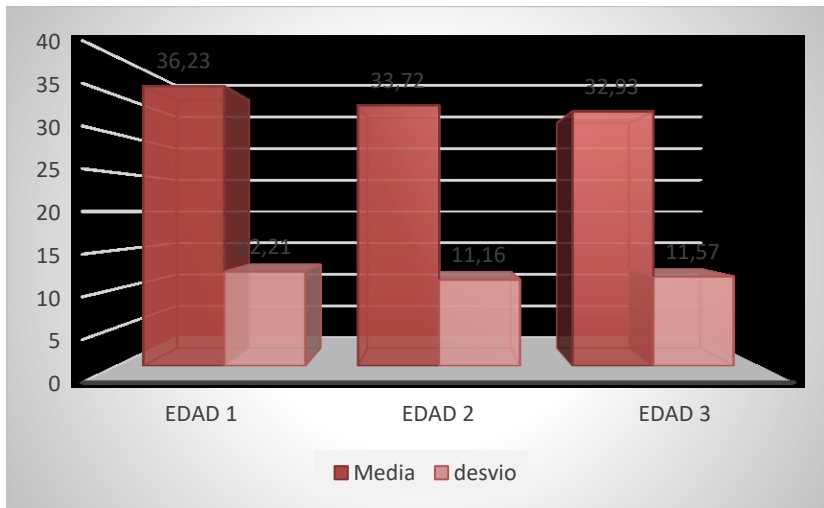


FIGURA 12. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA AST SEGÚN LA EDAD.

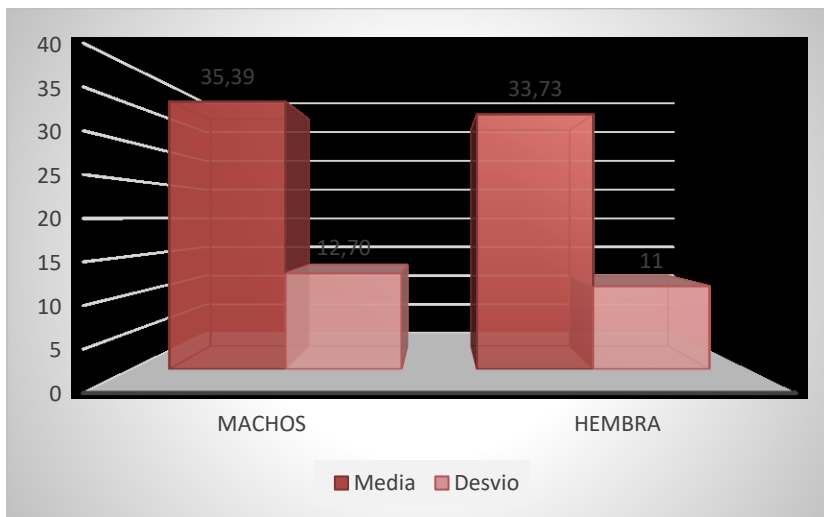
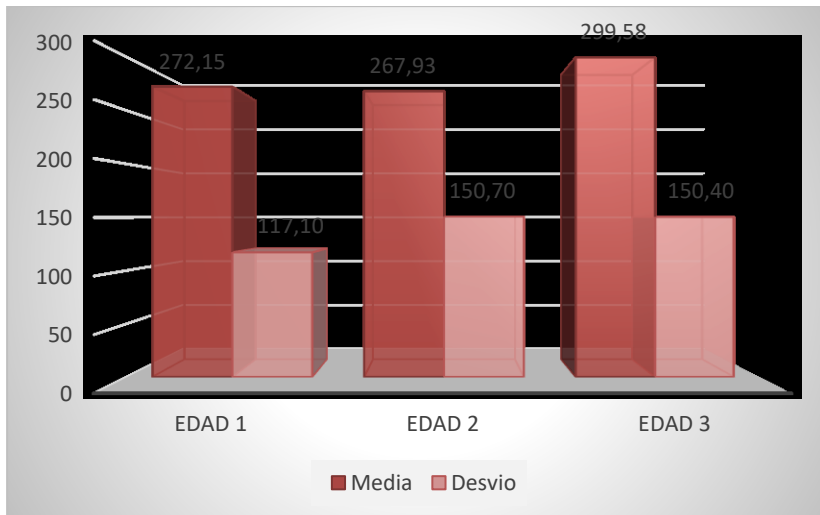


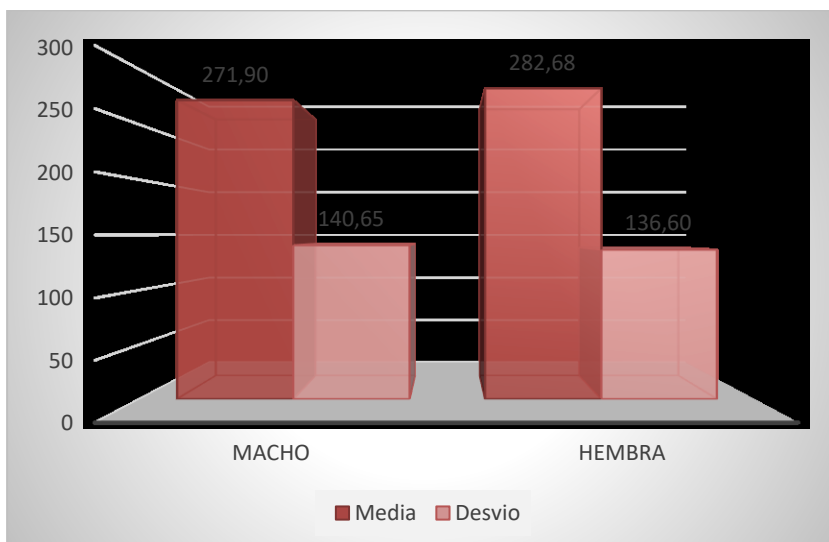
FIGURA 13. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA AST SEGÚN EL SEXO.

### LDH

No se encontraron efectos estadísticos significativos. Para edad 1 la media fue de  $272,15 \pm 117,1$ , en edad 2 fue de  $267,93 \pm 150,70$ , y para la edad 3 fue de  $299,58 \pm 150,4$  ( $P=0,39$ ). En machos el valor de la media fue de  $271,9 \pm 140,65$  para las hembras fue de  $282,69 \pm 136,6$  ( $P=0,30$ ).



**FIGURA 14. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA LDH SEGÚN LA EDAD.**



**FIGURA 15. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA LDH SEGÚN EL SEXO.**

### CPK

En edad 1 la media fue de  $224,06 \pm 134,42$ , en edad 2 fue de  $201,45 \pm 141$  y en la edad 3 de  $186,34 \pm 91,20$  ( $P=0,20$ ). En machos la media fue de  $214,78 \pm 133,2$ , y en hembras  $197,89 \pm 119,6$  ( $P=0,17$ ). No se evidenciaron efectos estadísticos significativos en ninguna de las variables (sexo y categoría etaria).

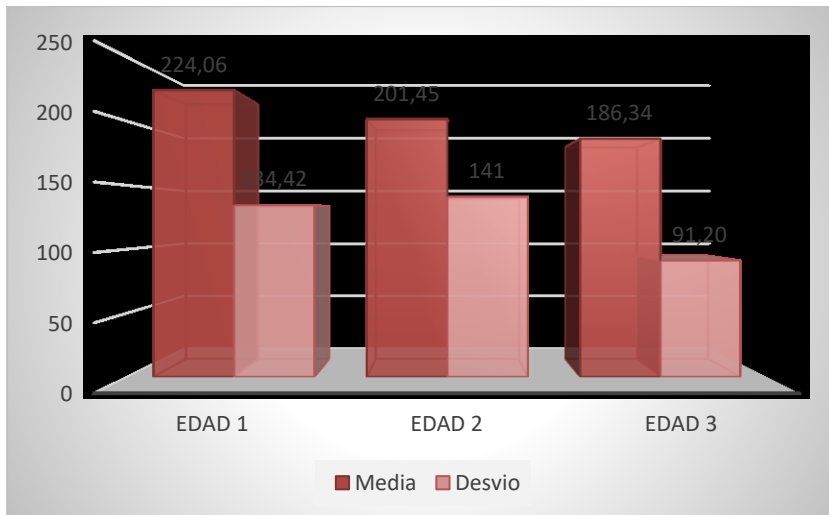


FIGURA 16. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA CPK SEGÚN LA EDAD.

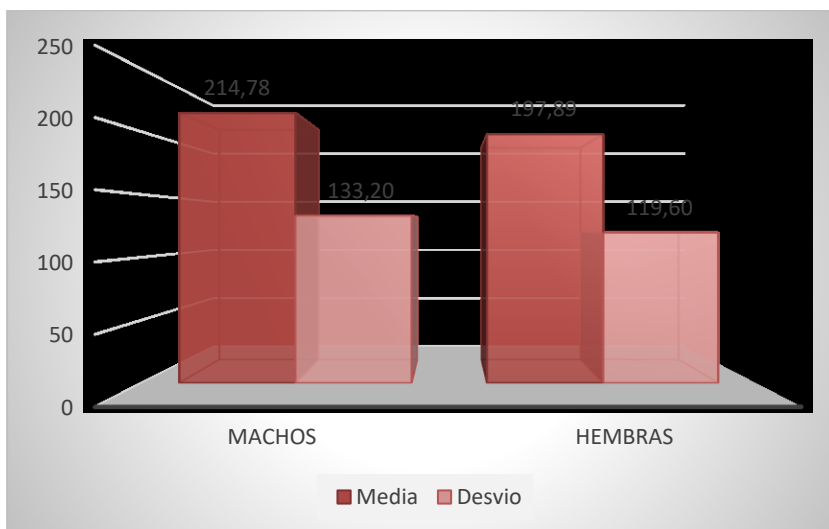
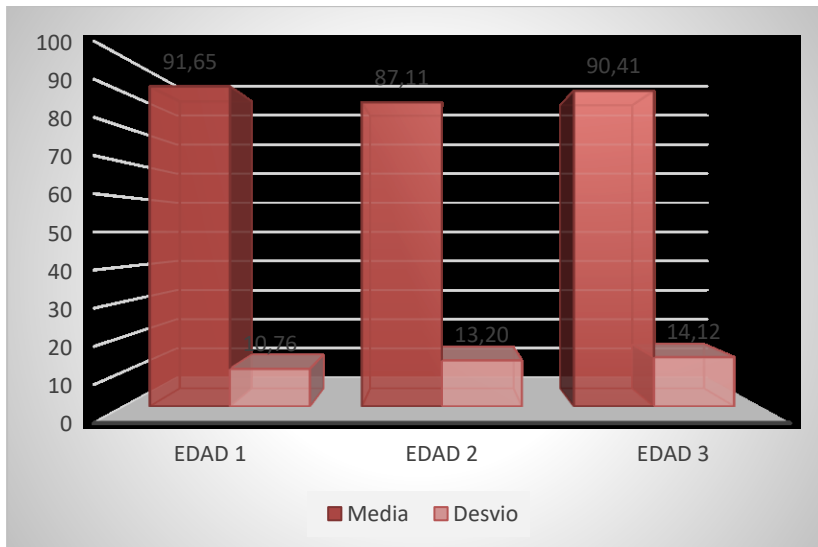


FIGURA 17. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA CPK SEGÚN EL SEXO.

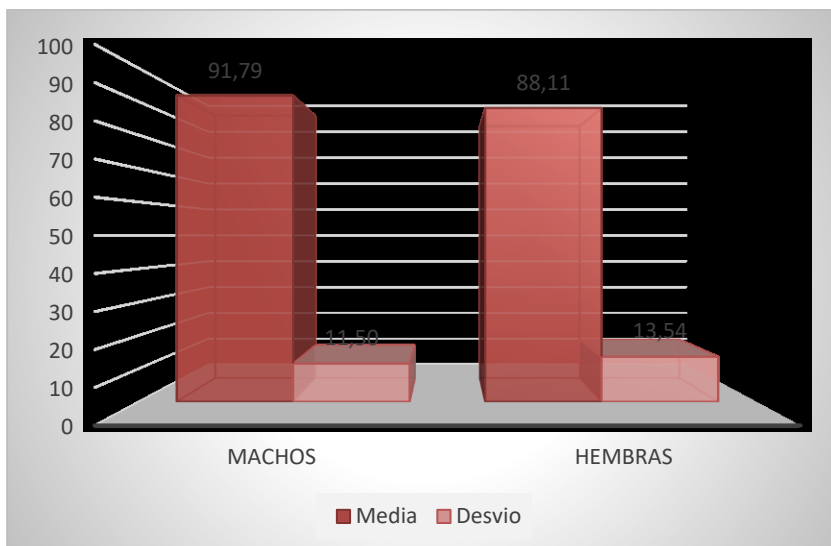
## Glicemia

En la edad 1 la media fue de  $91,65 \pm 10,76$ , en la edad 2 fue de  $87,11 \pm 13,20$  y para la edad 3 la media fue de  $90,41 \pm 14,12$ . La P fue de 0,11, no hallándose significancia estadística.

La probabilidad obtenida en el test de T, fue de 0,03 por lo tanto estamos hablando de que existen diferencias significativas entre machos y hembras. La media fue de  $91,79 \pm 11,50$  y  $88,11 \pm 13,54$  respectivamente.



**FIGURA 18. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA GLICEMIA SEGÚN LA EDAD.**



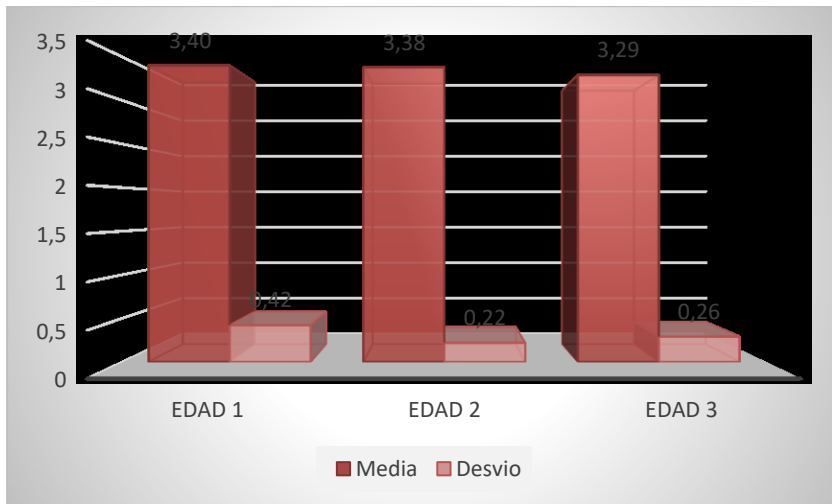
**FIGURA 19. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA GLICEMIA SEGÚN EL SEXO.**

## Funcional hepático

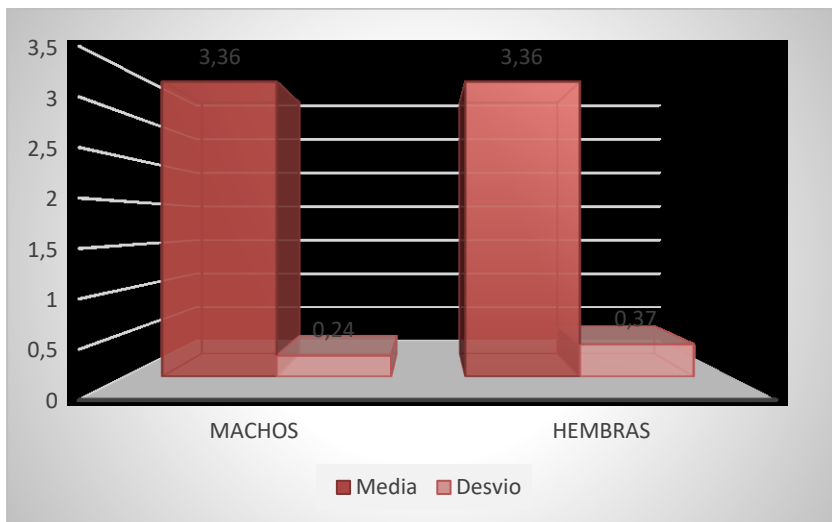
### Albúmina

Tanto entre edades como entre sexos no se evidenciaron diferencias significativas. En la edad 1, la media fue de  $3,40 \pm 0,42$ , en la edad 2 de  $3,38 \pm 0,22$ , y en la edad 3 la media fue de  $3,29 \pm 0,26$  ( $P=0,10$ ).

En machos la media fue de  $3,36 \pm 0,24$  y en hembras fue de  $3,36 \pm 0,37$ . La P obtenida fue de 0,47.



**FIGURA 20. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA ALBÚMINA SEGÚN LA EDAD.**



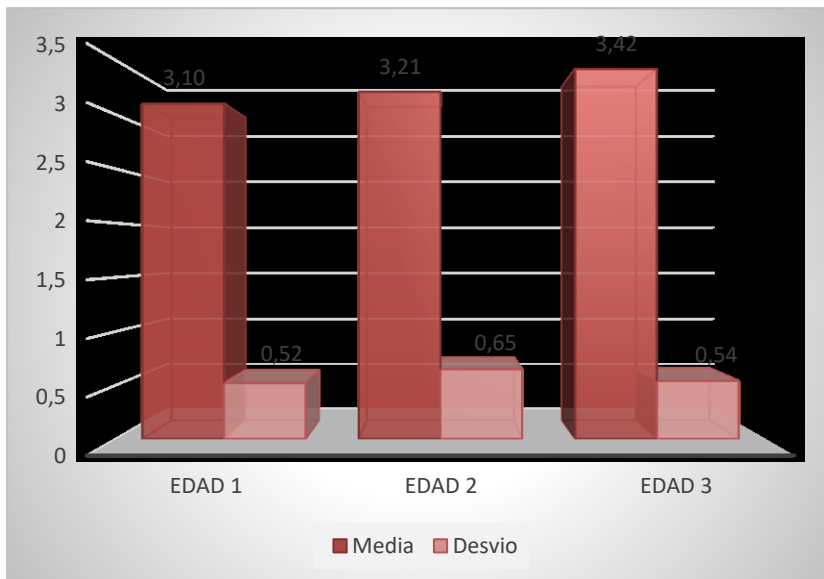
**FIGURA 21. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA ALBÚMINA SEGÚN EL SEXO.**

### Globulinas

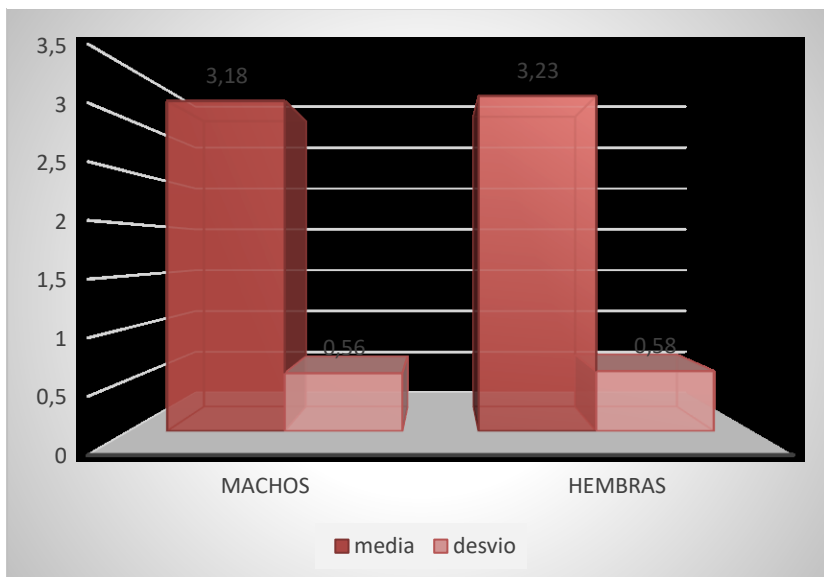
La P obtenida mediante el test de ANOVA para las distintas edades fue de 0,01, siendo este un resultado que implica la existencia de diferencias significativas entre edades. En la edad 1 la media fue de  $3,10 \pm 0,52$ , en la edad 2 fue de  $3,21 \pm 0,65$  y en la edad 3 de  $3,42 \pm 0,54$ .

Entre la edad 1 y 3 ( $P=0,0003$  y  $P=0,0006$ ) y 2 y 3 ( $P=0,031$  y  $P=0,062$ ) se hallaron diferencias significativas, siendo la franja etaria 3 la que presentó mayor media. La probabilidad entre las edades 1 y 2 fue de 0,14.

No se observaron diferencias significativas entre sexos siendo en machos la media de  $3,18 \pm 0,56$  y en hembras de  $3,23 \pm 0,58$  ( $P=0,26$ ).



**FIGURA 22. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LAS GLOBULINAS SEGÚN LA EDAD.**

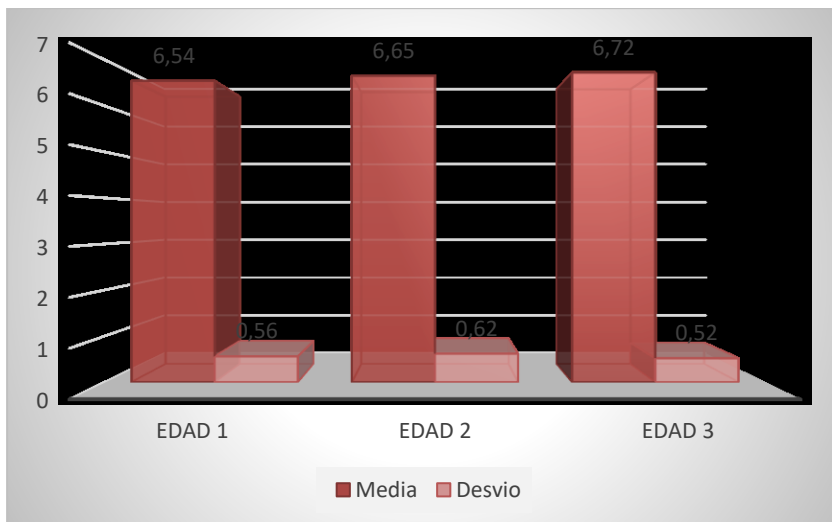


**FIGURA 23. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LAS GLOBULINAS SEGÚN EL SEXO.**

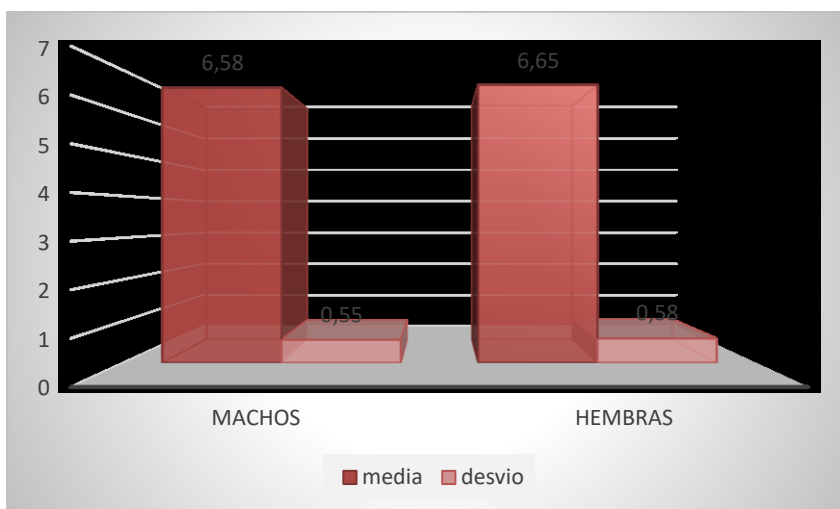
### Proteínas totales

Los datos obtenidos para las proteínas totales fueron los siguientes: para la edad 1 la media fue de  $6,54 \pm 0,56$ , para la edad 2 fue de  $6,65 \pm 0,62$  y en la edad 3 el valor de la media fue de  $6,72 \pm 0,52$ . Se obtuvo una P de 0,18 por lo tanto concluimos que no existen diferencias significativas entre las franjas etarias.

Para los machos la media fue de  $6,58 \pm 0,55$  y para las hembras  $6,65 \pm 0,58$ . La P obtenida fue de 0,17, no existiendo diferencias significativas entre sexos.



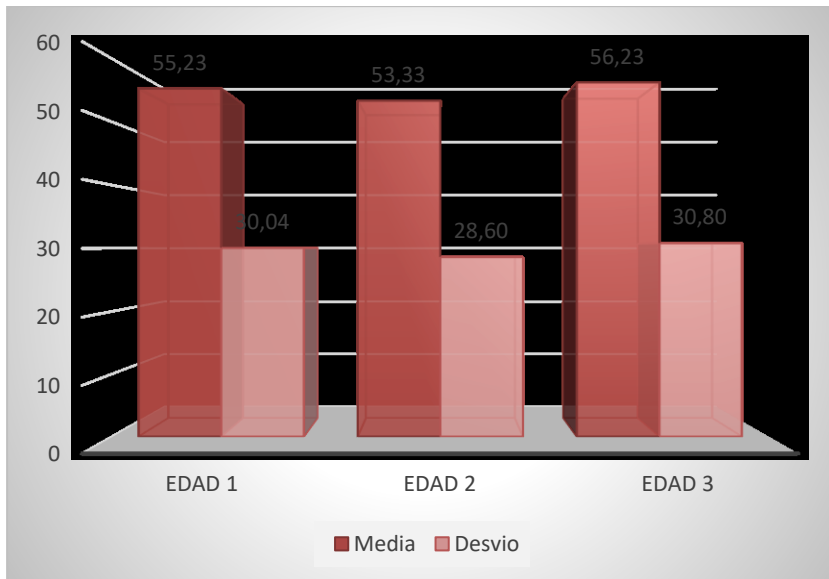
**FIGURA 24. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LAS PROTEÍNA TOTALES SEGÚN LA EDAD.**



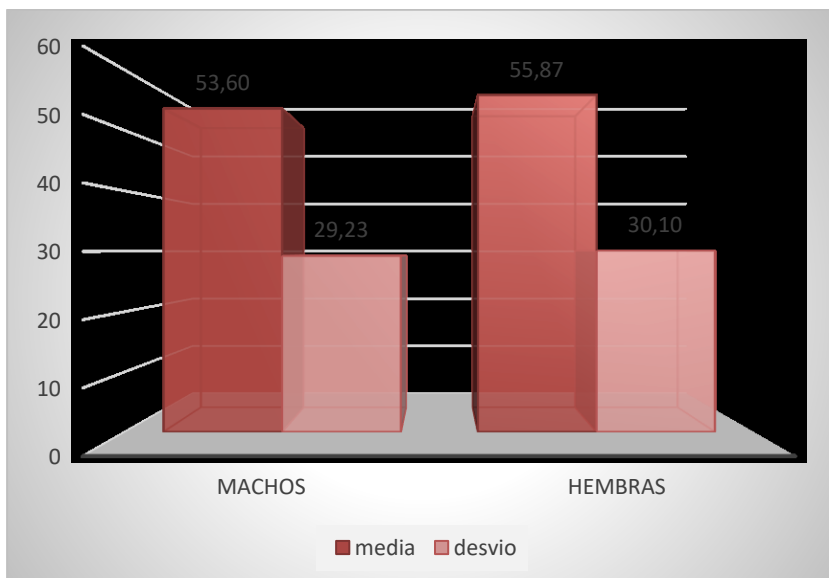
**FIGURA 25. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LAS PROTEÍNAS TOTALES SEGÚN EL SEXO.**

### ALT

Para esta enzima se obtuvieron los siguientes datos: la media para la edad 1 fue de  $55,23 \pm 30,04$ , para la edad 2 fue de  $53,33 \pm 28,60$  y para la edad 3 fue de  $56,23 \pm 30,8$ . La P fue de 0,86 lo que implica que no hay diferencias significativas entre las distintas edades. Tampoco se encontraron diferencias entre machos y hembras siendo para los machos la media de  $53,60 \pm 29,23$  y para las hembras  $55,87 \pm 30,1$  ( $P=0,30$ ).



**FIGURA 26. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA ALT SEGÚN LA EDAD.**



**FIGURA 27. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA ALT SEGÚN EL SEXO.**

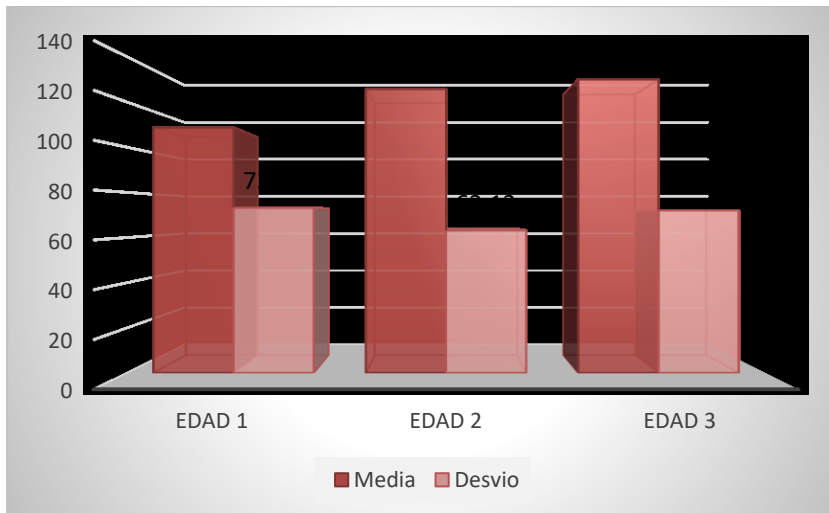
### FAS

No se hallaron diferencias estadísticas significativas entre edades ( $P=0,16$ ) y tampoco entre ambos sexos ( $P=0,20$ ).

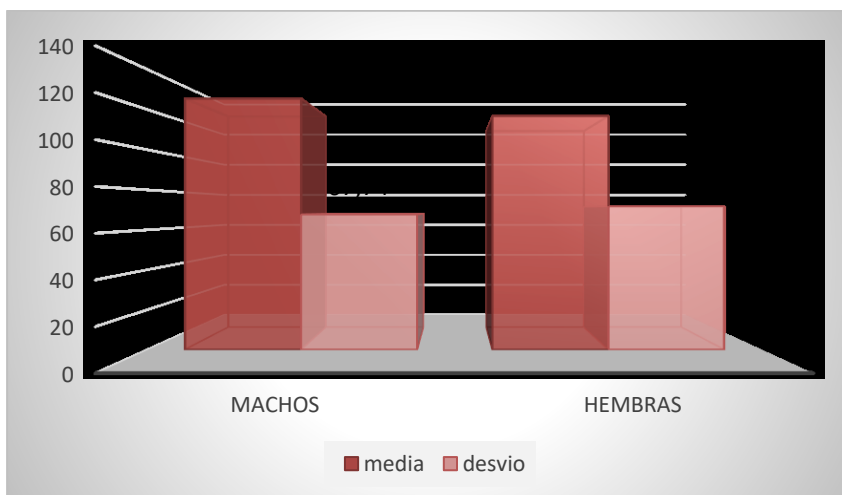
Para la edad 1, la media fue  $108,75 \pm 73,21$ , para la edad 2 fue de  $125,78 \pm 63,12$  y para la edad 3 el valor fue de  $130,05 \pm 72$ .

En machos la media fue de  $125,41 \pm 67,74$  y en hembras  $116,78 \pm 71,83$ .





**FIGURA 28. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA FAS SEGÚN LA EDAD.**

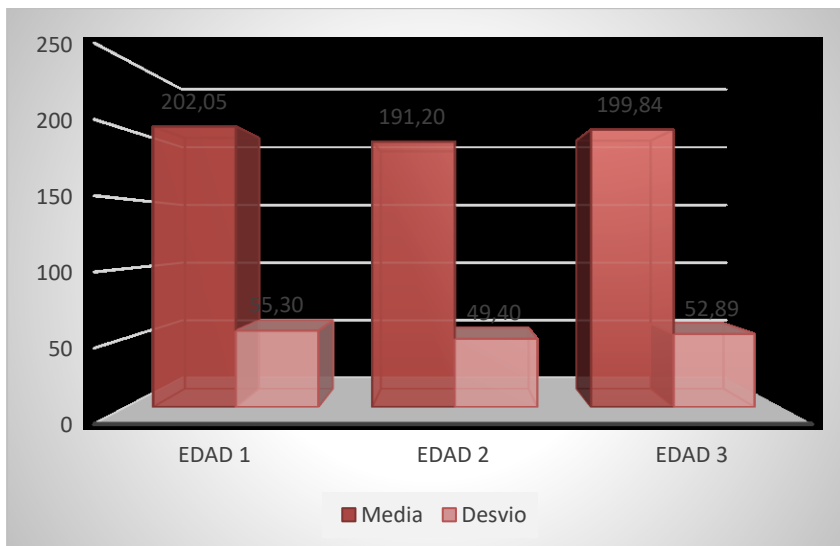


**FIGURA 29. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA FAS SEGÚN EL SEXO.**

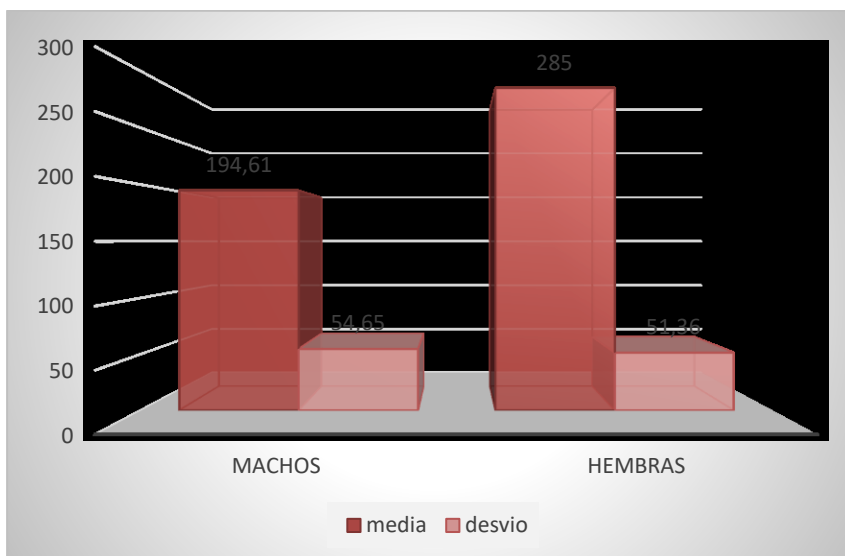
### Colesterol

Para la edad 1 la media fue de  $202,05 \pm 55,3$ , para la edad 2 fue de  $191,20 \pm 49,4$  y para la edad 3 fue de  $199,84 \pm 52,89$ . La P para el colesterol entre edades fue de 0,45 por lo tanto no hay diferencias significativas entre las distintas categorías.

En los machos la media obtenida fue de  $194,61 \pm 54,65$  y en las hembras  $285 \pm 51,36$  ( $P= 0,20$ ).



**FIGURA 30. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA EL COLESTEROL SEGÚN LA EDAD.**

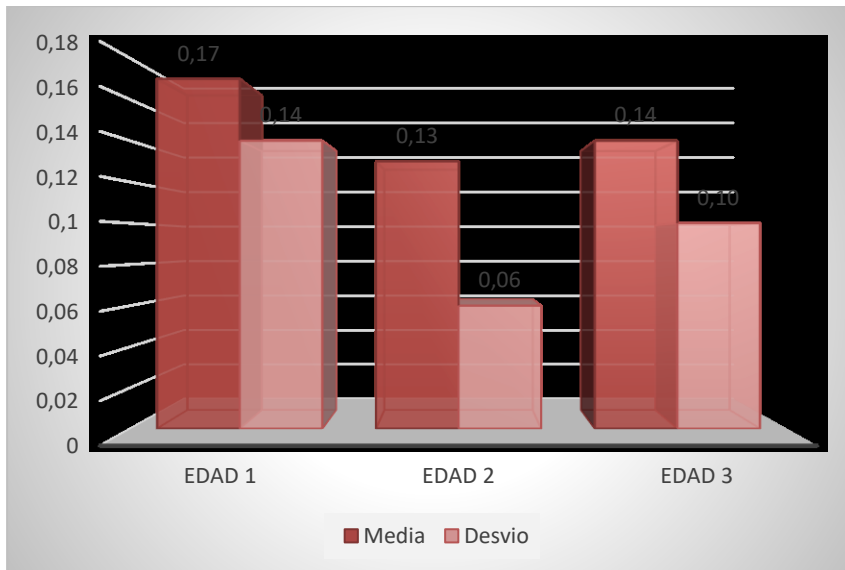


**FIGURA 31. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA EL COLESTEROL SEGÚN EL SEXO.**

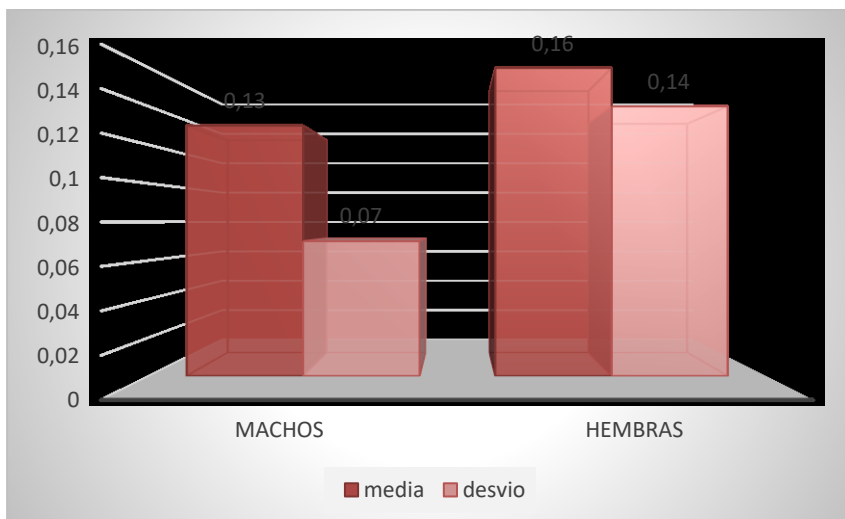
### Bilirrubina

Para este analito las medias halladas fueron:  $0,17 \pm 0,14$  para la edad 1,  $0,13 \pm 0,06$  para la edad 2 y  $0,14 \pm 0,10$  para la edad 3. La P obtenida fue 0,19, no existiendo diferencias significativas entre las franjas etarias.

Entre ambos sexos consideramos que existe una tendencia dado que el valor de P es de 0,07. Para los machos la media fue de  $0,13 \pm 0,07$  y para las hembras fue de  $0,16 \pm 0,14$ .



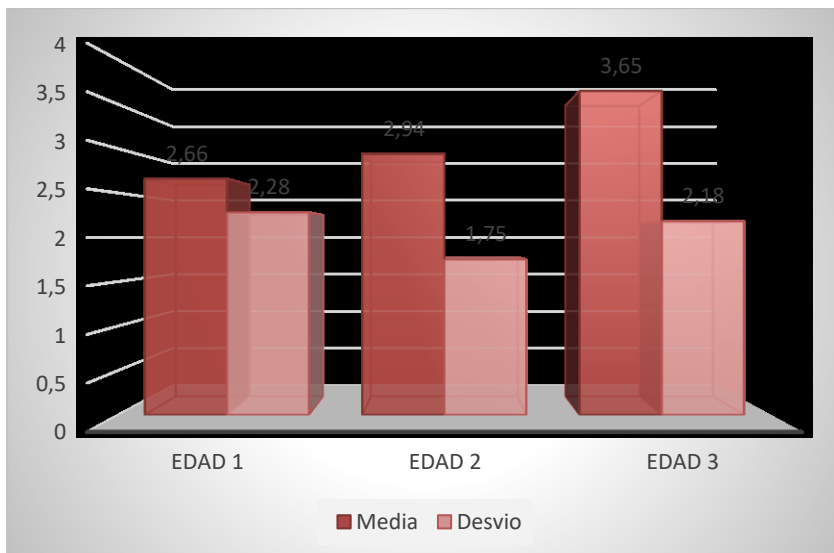
**FIGURA 32. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA BILIRRUBINA SEGÚN LA EDAD.**



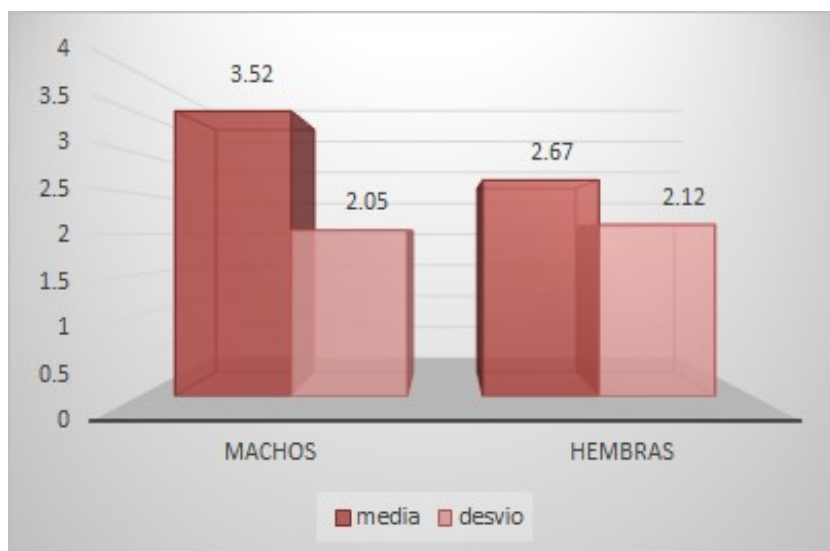
**FIGURA 33. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA BILIRRUBINA SEGÚN EL SEXO.**

### GGT

Para la GGT se hallaron diferencias significativas tanto para las distintas franjas etarias como para machos y hembras. En la edad 1, la media obtenida fue de  $2,66 \pm 2,28$ , en la edad 2 fue de  $2,94 \pm 1,75$  y en la edad 3 fue de  $3,65 \pm 2,18$ , siendo  $P=0,03$ . Para los machos la media fue de  $3,52 \pm 2,05$  y para las hembras fue de  $2,67 \pm 2,12$ , siendo el valor de  $P= 0,0045$ . Estos resultados evidencian una diferencia estadística significativa entre sexos.



**FIGURA 34. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA GGT SEGÚN LA EDAD.**

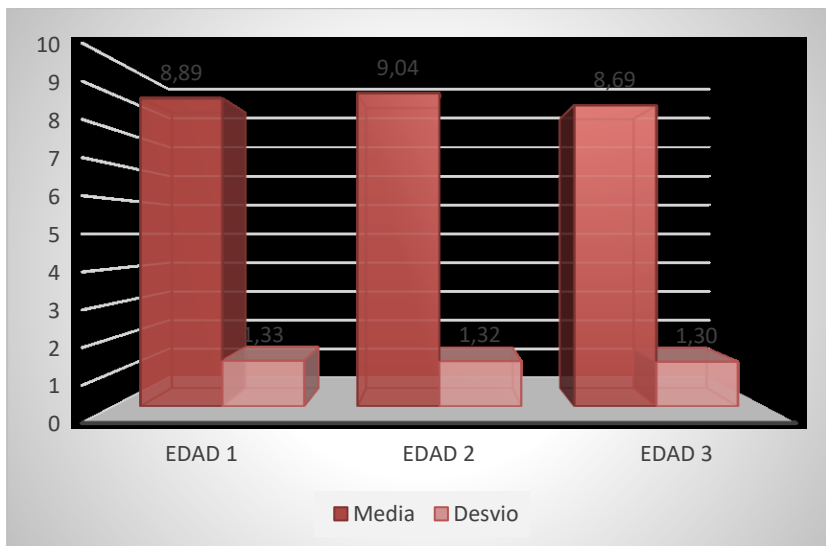


**FIGURA 35. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA LA GGT SEGÚN EL SEXO.**

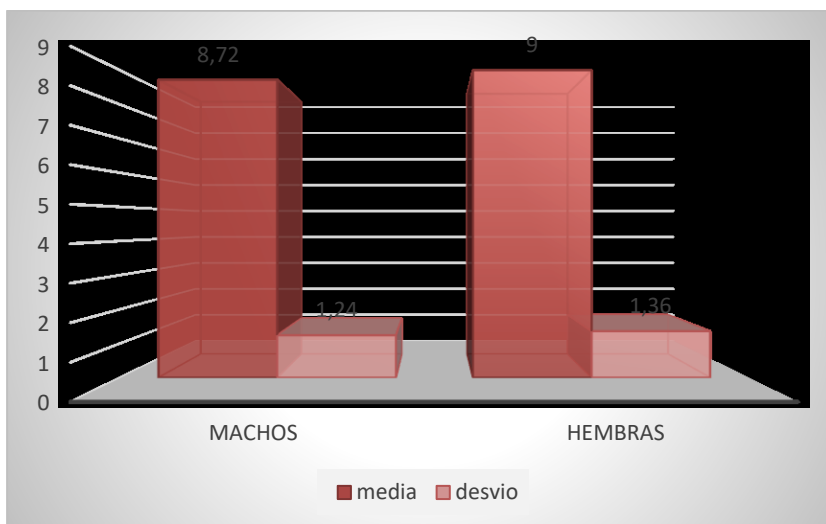
## Calcio

Entre edades la P fue de 0,34 por lo que no existe significancia estadística. Para la edad 1 la media obtenida fue de  $8,89 \pm 1,33$ , para la edad 2 fue de  $9,04 \pm 1,32$ , y para la edad 3 fue de  $8,69 \pm 1,30$ .

Existe una tendencia ( $P=0,07$ ) entre machos y hembras. Para machos la media fue de  $8,72 \pm 1,24$  y para hembras fue de  $9 \pm 1,36$ .



**FIGURA 36. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA EL CALCIO SEGÚN LA EDAD.**



**FIGURA 37. DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA Y EL DESVÍO PARA EL CALCIO SEGÚN EL SEXO.**

## DISCUSIÓN

Nuestro trabajo demostró que la determinación de los intervalos de referencia cuando se refiere a animales sanos, no es sencilla, partiendo de la premisa de lo laborioso y ambiguo que es determinar el estado de salud. En medicina humana la Organización Mundial de la Salud define la salud como un estado de completo bienestar físico, mental y social y no simplemente la ausencia de enfermedad. Este es un intento de definir la salud absoluta, pero como tal, la salud absoluta nunca logra ser alcanzada. Además, como describe Solberg (1987), es posible estar bien en cierto aspecto y enfermo en otro, y muchas veces lo que se considera saludable en un país de menor desarrollo puede ser juzgado como no saludable en países más desarrollados. Por lo tanto, utilizamos criterios de exclusión descritos en la literatura para minimizar al máximo animales que pudieran estar cursando con alguna patología o con alguna condición que fuera a interferir en nuestros resultados (Friedrichs y col, 2012; Geffré y col, 2011; Thrall, 2012).

Por otro lado si bien contamos con un número de muestras acorde para la determinación de los intervalos, sería más preciso el análisis de múltiples muestras de un mismo paciente, ya que existen variaciones en los analitos (variaciones biológicas) dentro de un mismo animal (Gallum G y col. 2008, Knuiman y col; 1988).

Estas variables dependen de factores diferentes; la varianza analítica refleja la metodología empleada, la instrumentación utilizada y las habilidades del personal. La variación biológica depende de factores fuera del control del estudio, con excepción de las variables pre analíticas, como el momento de la recolección de la muestra o la dieta previa a la extracción. Estas variaciones, contribuirán a los distintos resultados individuales obtenidos en muestras en serie de un mismo sujeto (Gallum G y col. 2008).

Tal como lo describieron en sus trabajos publicados (Gallum y col. 2008, Keller, 1986, Saskia Kley y col; 2003, So-Young Choi, 2011,) existen variaciones biológicas regionales, influencias de razas, sexo, edad (en las diferentes etapas de la vida) y características genéticas. Factores ambientales como la estación y el clima, así como los procesos fisiológicos, pueden afectar individuos clínicamente "normales" incluidos en la población de referencia y causar variaciones significativas.

Además, el uso de distintos métodos estadísticos y analíticos, puede tener efecto en los valores de referencia, esto sucede especialmente para las actividades enzimáticas a distintas temperaturas. De acuerdo a la guía realizada por American Society of Veterinary Clinical Pathologists (ASVCP) y otros autores (Horno y col; 2003, Geffré y col; 2009, Friedrichs y col; 2012) las muestras deben ser de al menos de 120 individuos para la estimación del intervalo de referencia (IR). Desafortunadamente, este tamaño de muestras es muy difícil de lograr en medicina veterinaria (Kevin Le Boedec, 2018). La recolección de tantas muestras como sea posible, hará que la determinación de los intervalos de referencia sea más preciso. Esto será más importante para la optimización de los resultados que para la selección de los métodos estadísticos, aunque estos últimos mejoran la precisión de los IR especialmente cuando no es posible la recolección de grandes cantidades de muestras (Geffré y col; 2009).

## **Glicemia**

Con respecto a la glicemia, obtuvimos mediante la realización de los test F y T diferencias estadísticas significativas entre machos y hembras, siendo el valor de la media más alto en los machos. En un estudio realizado por KIMURAI y col (1992) también obtuvieron valores de media más alta en machos que en hembras para la raza Beagle. En otro trabajo realizado en pollos, por Osorio y col; (2016), también obtuvieron esta diferencia, la cual fue relacionada al efecto de la manipulación física lo que estimula varias vías metabólicas. Además, hallaron que los valores de insulina para las hembras en comparación con los machos eran significativamente mayores. Pessina y col.,2010, buscaron determinar el efecto de la ingesta y del sexo sobre las concentraciones séricas de la glucosa e insulina entre otros analitos. El trabajo demostró que en las hembras tres horas post ingesta, la concentración de glucosa más baja, coincidía con las concentraciones de insulina más altas. Estos autores lo relacionaron posiblemente a una influencia de los estrógenos sobre los niveles de insulina debido a que otros estudios revelaron esta correlación hormonal en ovejas y ratas (Sosa y col., 2006; Nadal y col., 1998; Morimoto y col., 2001)

Nuestro intervalo de referencia para la glicemia, es próximo a los intervalos de referencia consultados (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019).

## Perfil hepático

### **Proteínas totales, globulinas y albúmina.**

Como lo menciona Willard (2004), los valores más bajos de proteínas totales, globulinas y albuminas, son normales en animales perinatales y jóvenes, y aumentan de forma gradual en la etapa adulta. Tanto la albúmina como la globulina tienden a declinar en edades avanzadas. Nuestro trabajo coincide en lo que respecta a la albúmina ya que se encontró una tendencia estadística, siendo la media menor para la categoría tres. En un estudio realizado por Radakovich y col, 2017, en donde evaluaron el efecto de la edad sobre la bioquímica sanguínea y hemograma, hallaron que los niveles de albúmina declinaban a medida que aumentaba la edad.

Con respecto a las globulinas, obtuvimos una media mayor para los animales más viejos, implicando esta, una diferencia estadística significativa. Esto coincide con lo obtenido por Radakovich y col, 2017 en su trabajo ya que vieron que los perros geriátricos tenían valores de globulinas más elevados en comparación con los perros adultos. La disminución de los valores de albúmina y el aumento de globulinas, representa un patrón de bajo grado de inflamación, el cual este autor asocia en su trabajo con las edades avanzadas de los perros.

Además, el límite superior de nuestro intervalo para las globulinas fue algo mayor que los consultados (Cornell University College of Veterinary Medicine 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019), lo cual podría deberse a procesos inflamatorios persistentes (trastornos crónicos bacterianos, virales, parasitarios), neoplasias o enfermedades inmunomediadas. Willard (2004) asocia que los pacientes con hiperglobulinemia pueden presentar una disminución leve en la síntesis de albumina, que quizá tenga el objetivo de mantener la presión oncótica o la viscosidad. Tanto para la albúmina como para las proteínas totales, los intervalos de referencia

coinciden con la bibliografía internacional (Cornell University College of Veterinary Medicine 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019).

## **FAS**

Para esta enzima los resultados obtenidos tanto para las distintas edades como para machos y hembras, no presentaron diferencias estadísticas significativas. En cuanto al intervalo de referencia comparativamente con los consultados (Cornell University College of Veterinary Medicine 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019), los valores de ambos límites fueron superiores. Syakalima (1998) describe que la composición y la actividad de isoenzimas de la FAS en suero está influenciada por muchos factores fisiológicos tales como: la edad, la alimentación (carbohidratos) y la raza (Scottish terrier, Schnauzer, Husky siberiano) (Syakalima, 1998; Álvarez, Whittemore, 2009; Derek, 2006).

Las distintas isoenzimas inducibles de las FAS se encuentran en hígado, riñón, intestino y tejido óseo. La medición de la actividad de la FAS en suero o plasma, generalmente comprende las isoenzimas L-FAS (hígado), B-FAS (hueso) y C-FAS (corticoesteroide). (Álvarez, Whittemore, 2009). Las contribuciones de las distintas isoenzimas varían con la edad y afectan el valor total de la FAS. En perros sanos la C-FAS contribuye aproximadamente a un 10-30% de la actividad total de la FAS, siendo este aumento más marcado en perros mayores que en jóvenes. (Syakalima, 1998). La inducción enzimática causada por glucocorticoides tanto endógenos como exógenos, o administración de fármacos puede incrementar la FAS más de 10 veces sobre el valor normal (Willard, 2004). Por lo tanto el aumento de los valores obtenidos para nuestro intervalo de referencia para esta enzima podría haberse visto influenciado por estrés al momento de la colecta de sangre y por los distintos factores fisiológicos anteriormente descritos.

## **GGT**

Con respecto a la GGT, si bien encontramos diferencias significativas entre edades y sexos, los intervalos de referencia, se asemejan a la bibliografía internacional (Cornell University College of Veterinary Medicine 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019).

Como fue descrito en los resultados, la media para la franja etaria 3 fue más alta que para el resto de las categorías. Kley y col (2013) en su trabajo también encontraron un aumento de esta enzima asociada a la edad. Debido a que los valores de GGT obtenidos en las tres categorías estuvieron dentro de los intervalos de referencia, este dato podría no tener importancia clínica. En el caso de que estos valores estuvieran aumentados, deberíamos asociar estos resultados con los obtenidos para la enzima FAS ya que el aumento de la actividad de la GGT tiende a aumentar paralelamente a la actividad de esta en desórdenes colestáticos (Stockham; Scott, 2008). Kley y col (2013) también mencionan en su trabajo, que hallaron valores de actividad más bajos tanto para ALT como para GGT en cachorros como lo habían informado anteriormente otros autores (Kaspar y Norris 1977; Kuhlet al. 2000, Dereser 1990; Keller y Wall 1982). Se observó que estos cambios en las actividades de las enzimas plasmáticas son un signo de crecimiento celular, adaptación y diferenciación de los órganos y el metabolismo (Keller 1986).

## **BILIRRUBINA TOTAL**

Para la bilirrubina el intervalo de referencia concuerda con los intervalos obtenidos por otros autores (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard,



2004; Oregon State University, 2019). Para las edades no obtuvimos diferencia estadística significativa. En machos y hembras se observó una tendencia, siendo la media mayor para las hembras. Para confirmar si esta tendencia puede implicar una diferencia significativa entre sexos deberíamos aumentar la muestra.

### **ALT**

Obtuvimos un aumento moderado para el límite superior de esta enzima. Según la bibliografía, una marcada hemólisis podría aumentar el valor de la ALT (Stockham, Scott, 2008), no siendo este nuestro caso ya que las muestras con este artefacto fueron descartadas. El aumento en las enzimas hepáticas es común en perros. Un estudio de bioquímica sanguínea realizado en 1022 perros mostró que el 39,1% y el 17,4 % tenían un incremento en la actividad de la FAS y la ALT respectivamente. A pesar de que el aumento de la actividad de las enzimas hepáticas es altamente sensible como biomarcador de trastornos hepatobiliares, es complicada la interpretación de estos aumentos por el hecho de que existen variaciones entre razas y enfermedades extrahepáticas que a menudo causan hallazgos de laboratorio similares (Álvarez, Whittemore, 2009). Otra causa de un incremento menor podría deberse al ejercicio ya que la ALT se encuentra en pequeñas cantidades en músculo estriado. La restricción de ejercicio previo al muestreo no fue un criterio de exclusión para nuestro trabajo y esta podría ser una de las razones de este aumento.

### **LDH, CK y AST**

Si bien se hallaron variaciones en los valores de los límites tanto superior como inferior para la LDH con respecto a la bibliografía internacional (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019), el origen del aumento de esta enzima es variable e inespecífico ya que se encuentra en tantos tejidos corporales que su valor diagnóstico es cuestionable (Willard, 2004). Es por esto que está incluida en el perfil muscular en conjunto con la CK y AST. Un aumento de la LDH puede deberse a ejercicio, alteraciones hepáticas y neoplasias. (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013). Artefactos como una leve hemólisis pueden dar un aumento de esta enzima (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Stockham; Scott, 2008).

También obtuvimos un incremento en el valor del límite superior de la CK al compararlo con la bibliografía; Willard, 2004; Oregon State University, 2019), siendo este de 456,42 U/l. Willard (2004) describe que los aumentos realmente importantes serían los mayores a 10.000 U/l o los persistentes, mayores a 2000 U/l. Esta enzima está presente en el citoplasma de los miocitos y en el cerebro, es por esto que es la más evaluada para la enfermedad muscular (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013). Es una indicadora extremadamente sensible de daño muscular y por ello suelen hallarse resultados elevados debido a daño muscular secundario (Willard, 2004). Además de esto un incremento en la actividad de esta enzima puede relacionarse también al peso del animal, siendo la actividad de la CK hasta un 70 % más alta en los perros menores de 10 kg (Stockham; Scott, 2008).

Los valores de la AST obtenidos para nuestro intervalo se aproximan a los valores presentados por la bibliografía internacional consultada (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019). Esta enzima se encuentra en cantidades significativas en los hepatocitos, músculo y glóbulos rojos (Willard, 2004). Presenta una vida media más prolongada que la CK. Por lo tanto, en enfermedades crónicas del músculo la AST podría estar aumentada

mientras que la actividad de la CK permanece con valores normales (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

Debido a que en nuestra tesis la restricción del ejercicio previo a la extracción sanguínea no fue un requisito para los individuos de referencia, los aumentos observados en las enzimas LDH y CK podrían estar asociados a un leve o moderado daño muscular causados por el ejercicio. En el caso de que los valores de la AST acompañaran el aumento de las actividades de estas enzimas, podría ser indicativo de una enfermedad muscular. Generalmente cuando esto ocurre tanto la CK como la AST se verán elevadas (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013).

### **Urea, creatinina y fosforo**

Si bien la urea y creatinina no demostraron tener diferencias estadísticas significativas entre sexos y edades, diversos estudios hablan de que existe un incremento en estos analitos asociados a la edad (Kley y col 2013, Soumyaranjan y col, 2015,). Los resultados de nuestro trabajo no coinciden con la literatura ya que las medias fueron más altas en la categoría 1 y 2 tanto para la urea como para la creatinina (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019).

En cuanto a los intervalos obtenidos para la urea coinciden con la bibliografía internacional consultada. La urea, no solo refleja la tasa de filtración glomerular, sino que también la producción de urea por parte del hígado. La ingestión de comidas con alto contenido proteico, hemorragias gastrointestinales, la presencia de un estado catabólico y deshidratación incrementarán la urea incluso sin cambios en la tasa de filtración glomerular (Brown, 2006)

Tanto para el límite inferior como el superior, los valores para la creatinina fueron menores que en las diversas fuentes consultadas (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019). La producción de creatinina se verá afectada por la masa muscular magra y, por lo tanto, el sexo, la edad y la raza que tienden a alterar la concentración plasmática de la creatinina (Brown, 2006).

En un estudio utilizaron galgos retirados y un grupo control de perros no galgos clínicamente sanos. La concentración media de creatinina en galgos fue significativamente mayor que en perros no galgos. En animales con gran masa muscular, se esperaría tener almacenamientos superiores de fosfocreatinina, que a su vez podría resultar en mayores concentraciones de creatinina sérica (Feeman y col, 2003).

Con respecto al fósforo, no obtuvimos diferencias significativas entre sexos ni en las diferentes franjas etarias. Para los animales de la categoría 1 la media fue mayor, esto podría explicarse ya que es probable que perros jóvenes, en especial de razas grandes y gigantes tengan un valor de fósforo más alto que los adultos (Kley y col, 2013)

Finalmente, los valores obtenidos para los rangos concuerdan con la bibliografía consultada (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019).

## **Calcio**

Para el calcio no hubo diferencias significativas entre las edades. Entre machos y hembras existe una tendencia, siendo la media mayor en estas últimas.

En cuanto al intervalo de referencia obtenido para el calcio, observamos que el límite superior concuerda con la bibliografía internacional, pero el límite inferior se encuentra por debajo de lo que relatan los distintos autores (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019). En el caso de nuestro trabajo, el valor de este límite es de 6,14 mg/dl, siendo este considerado peligroso por algunos autores ya que por debajo de 7 mg/dl se considera que el animal podría presentar tetania (Holowaychuk, 2013; Willard 2004).

Cuando realizamos la revisión de los animales no se observó ninguno de los síntomas asociados a hipocalcemia los cuales pueden ser: ataxia, hipertermia, temblores musculares, calambres musculares, marcha rígida, rigidez, convulsiones, etc. (Holowaychuk, 2013)

Algunos artefactos que podrían dar una falsa disminución son concentraciones de bilirrubina aumentadas o errores de laboratorio (Willard 2004). Está descrito que la hipocalcemia puede estar presente en animales con hipoalbuminemia. Estadísticamente hallamos una tendencia entre las edades para la albúmina, siendo los animales mayores los que tienen una menor media. Si lo relacionamos con la media del calcio, podemos observar que los animales de la categoría 3 también tienen una menor media. Si bien encontramos esta asociación, no podemos hablar de una hipocalcemia debido a hipoalbuminemia ya que los valores que obtuvimos para la albúmina se encuentran dentro del intervalo de referencia.

## **Colesterol**

El intervalo de referencia obtenido en nuestro trabajo para este analito difiere levemente con lo consultado en otra bibliografía (Cornell University College of Veterinary Medicine, 2013; Willard, 2004; Oregon State University, 2019; Ruggerone y col; 2018) ya que el valor del límite inferior resultó ser algo menor. Se considera que la hipocolesterolemia primaria raramente constituye un problema (Willard, 2004; Stockham y Scott, 2008). Algunas causas de hipocolesterolemia pueden ser enteropatías perdedoras de proteínas, hepatopatías, determinados procesos malignos y desnutrición grave. Pero debido a que no encontramos alteraciones en otros analitos que generalmente están asociados en estas patologías, podría no significar una disminución clínicamente relevante. Otras causas relacionadas a una disminución del colesterol son los artefactos, como la lipemia y la ictericia severa. En nuestro trabajo muestras con estas características fueron descartadas.

## CONCLUSIONES

- Este trabajo permitió elaborar los intervalos de referencia de bioquímica sanguínea para caninos para el laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, siendo estos una herramienta muy valiosa. La bibliografía resalta la importancia de que cada laboratorio cuente con sus propios intervalos, ya que existen variaciones en las poblaciones, los equipos y reactivos, el personal, áreas geográficas, etc.
- Fueron halladas tanto diferencias como similitudes con respecto a varias fuentes consultadas, lo que avala la importancia de obtener valores propios. Hay que tener en cuenta que algunas diferencias encontradas en nuestro trabajo podrían deberse a que no estandarizamos ni realizamos protocolos específicos previos a la toma de muestras. Como por ejemplo distintos autores hablan de restricciones en la dieta y ejercicio, la realización de exámenes colaterales previos, así como también desparasitaciones, y que la extracción sea realizada siempre por la mañana. Esto lo estandarizaban para obtener menos variaciones y acercarse aún más a un paciente considerado “saludable”. Definir el estado de salud resulta muy complejo, porque la salud absoluta es imposible de determinar. La OMS lo define como un estado completo de bienestar físico mental y social, y no solo la ausencia de enfermedades. Considerando esto, extrapolar ese concepto a medicina veterinaria resulta aún más difícil definir el estado de salud en un animal.
- En nuestro caso nos limitamos a una población clínicamente sana (determinada por maniobras semiológicas, y una anamnesis completa), dentro de determinada franja etaria (de 1 a 10 años), conformada por distintas razas, tamaños, dietas, condiciones ambientales, que no hayan recibido tratamientos farmacológicos, y por último que se les haya realizado un ayuno de 12 horas, sin discriminar el horario para la extracción. Todo esto pudo haber llevado a las diferencias que observamos, pero también al tener una población tan heterogénea, consideramos que esto nos aproximó a las características reales de esa población muestreada, contemplando las variaciones biológicas y ambientales que puedan existir.
- Además de las diferencias que encontramos en los intervalos con la bibliografía, también obtuvimos diferencias estadísticas significativas para algunas categorías etarias y/o entre sexos para determinados analitos. Para algunas de estas diferencias no hallamos reportes en la bibliografía, por lo que serían necesarios estudios posteriores con el fin de esclarecer y explicar el porqué de estos resultados. En el caso de los analitos que mostraron una tendencia estadística se debería aumentar el n para determinar si realmente existe o no una diferencia estadística significativa.

## BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, J.L.; Vives J.L. (2006) Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. 3ª Ed. Barcelona, Elsevier, 741 p.
2. Álvarez Cáceres, R. (2007) Estadística aplicada a las ciencias de la salud. Madrid, Díaz de Santos, 996 p.
3. Bellier, S. (2010). Interprétation et valeurs usuelles des paramètres sanguins en biochimie clinique vétérinaire. *Revue Francophone Des Laboratoires* 40(420): 43–56.
4. Brown, S; Brown, C; Surdyk, K. (2006). Medical Management of chronic kidney disease. *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*, 31º, Prague, Czech Republic. <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture27/brown3.pdf?la=1>. Fecha de consulta 13 de agosto de 2019.
5. Choi, S.-Y; Hwang, J.-S; Kim, I.-H; Hwang, D.-Y; Kang, H.-G. (2011). Basic data on the hematology, serum biochemistry, urology, and organ weights of beagle dogs. *Laboratory Animal Research*, 27(4): 283-291.
6. Concordet, D; Vergez, F; Trumel, C; Diquélou, A; Lanore, D; Le Garrères, A; Braun, J. P. (2008). A multicentric retrospective study of serum/plasma urea and creatinine concentrations in dogs using univariate and multivariate decision rules to evaluate diagnostic efficiency. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(1): 96–103.
7. Cooper, E. S; Wellman, M. L; Carsillo, M. E. (2009). Hyperalbuminemia associated with hepatocellular carcinoma in a dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(4): 516–520.
8. Cornell University College of Veterinary Medicine. Reference Intervals. Disponible en: <http://eclinpath.com/test-basics/reference-intervals/>. Fecha de consulta: 15 de abril de 2019.
9. Cortright, C. C; Center, S. A; Randolph, J. F; McDonough, S. P; Fecteau, K. A; Warner, K. L; Erb, H. N. (2014). Clinical features of progressive vacuolar hepatopathy in Scottish terriers with and without hepatocellular carcinoma: 114 cases (1980-2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245(7): 797–808.
10. Elliott, K. F; Rand, J. S; Fleeman, L. M; Morton, J. M; Litster, A. L; Biourge, V. C; Markwell, P. J. (2012). A diet lower in digestible carbohydrate results in lower postprandial glucose concentrations compared with a traditional canine diabetes diet and an adult maintenance diet in healthy dogs. *Research in Veterinary Science*, 93(1): 288–295.
11. Erik Solberg, H; Stamm, D. (1991). IFCC recommendation: The theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *Journal of Automatic Chemistry*, 13(5): 231–234.
12. Fraser, G. G; Harris, E. K. (1989). Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 27(5): 409–437.
13. Feeman, W.E; Couto, C.G; Gray, T.L. (2003). Serum Cratinine Concentrations in Retired Racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology*, 32 (1): 40-42.

14. Freeman, K. P; Baral, R. M; Dhand, N. K; Nielsen, S. S; Jensen, A. L. (2017). Recommendations for designing and conducting veterinary clinical pathology biologic variation studies. *Veterinary Clinical Pathology*, 46(2): 211–220.
15. Friedrichs, K. R. (2010). Reference intervals: An essential, expanding, and occasionally equivocal standard. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(2): 131–132.
16. Friedrichs, K. R; Harr, K. E; Freeman, K. P; Szladovits, B; Walton, R. M; Barnhart, K. F; Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference interval guidelines: Determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4): 441–453.
17. Geffré, A; Friedrichs, K; Harr, K; Concordet, D ; Trumel, C; Braun, J. P (2009). Reference Value: a review. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(3): 288-298.
18. Harvey, J. W; West, C. L. (1987). Prednisone-induced Increases in Serum Alpha-2-Globulin and Haptoglobin Concentrations in Dogs. *Veterinary Pathology*, 24(1): 90–92.
19. Heilmann, R. M; Steiner, J. M. (2018). Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(5): 1495–1508.
20. Horn, P. S; Pesce, A. J. (2003). Reference intervals: An update. *Clinica Chimica Acta*, 334(1–2): 5–23.
21. Itoh, H., Kakuta, T., Genda, G., Sakonju, I., Takase, K. (2002). Canine serum alkaline phosphatase isoenzymes detected by polyacrylamide gel disk electrophoresis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(1): 35–39.
22. Jahr, T. H; Fergestad, M. E; Brynildsrud, O; Brun-Hansen, H; Skancke, E. (2019). Haematological and serum biochemical values in Norwegian sled dogs before and after competing in a 600 km race. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 61(1): 1–10.
23. Jensen, A. L; Aaes, H. (1993). Critical differences of clinical chemical parameters in blood from dogs. *Research in Veterinary Science*, 54(1): 10–14.
24. Khaki, Z; Masoudifard, M; Khadivar, F; Shirani, D; Fathipour, V; Taheri, M. (2017). Serum Biochemical and Hematological Parameters in Dogs with Benign Prostatic Hyperplasia (BPH). *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 11(1): 55–62.
25. Kjølgaard Hansen, M; Jensen, A. L. (2010). Table 1. Proposed hierarchy of models to be applied to set analytical quality specifications. *Veterinary Clinical Pathology* 2: 134–135.
26. Kley, S; Tschudi, P; Busato, A; Gaschen, F. (2003). Establishing canine clinical chemistry reference values for the Hitachi® 912 using the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommendations. *Comparative Clinical Pathology*, 12(2): 106–112.
27. Lao, E. G; García, Á. S; Figuerola, M. B; Moreno, E; Paire, A. H. (2017). Errors of Clinical Laboratory and Its Impact on Patient Safety. *Open Journal of Social Sciences*, 5: 243–253.
28. Le Boedec, K. (2019). Reference interval estimation of small sample sizes: A methodologic comparison using a computer-simulation study. *Veterinary Clinical Pathology*, 48(2): 335–346.
29. Lee, J.-M; Kang, J. S. (2016). Changes of hematological references depends on

storage period and temperature conditions in rats and dogs. *Laboratory Animal Research*, 32(4): 241.

30. Martiarena, B; Castillo, V; Regonat, M; Quintana, H; Brandi, G; Lamarca, G; Molina, E; Ruidíaz, V; Visintini, A. Determinación de parámetros para la evaluación del metabolismo Fósforo/Cálcico en perros adultos normales. (2014). *InVet*, 16(2): 57–61.

31. Misbach, C; Chetboul, V; Concordet, D; Médaille, C; Gruet, P; Speranza, C; Lefebvre, H. P. (2014). Basal plasma concentrations of routine variables and packed cell volume in clinically healthy adult small-sized dogs: Effect of breed, body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. *Veterinary Clinical Pathology*, 43(3): 371–380.

32. Nestor, D. D; Holan, K. M; Johnson, C. A; Schall, W; Kaneene, J. B. (2006). Serum alkaline phosphatase activity in Scottish Terriers versus dogs of other breeds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(2): 222–224.

33. Oregon State University, Clinical pathology reference intervals. Disponible en <https://vetmed.oregonstate.edu/diagnostic/resources/clinical-pathology-reference-intervals>. Fecha de consulta: 17 de junio de 2019.

34. Radakovich, L. B; Pannone, S. C; Truelove, M. P; Olver, C. S; & Santangelo, K. S. (2017). Hematology and biochemistry of aging—evidence of “anemia of the elderly” in old dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 46(1): 34–45.

35. Reed, A. H; Henry, R. J; Mason, W. B. (1971). Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clinical Chemistry*, 17(4): 275–284.

36. Ruaux, C. G; Carney, P. C; Suchodolski, J. S; Steiner, J. M. (2012). Estimates of biological variation in routinely measured biochemical analytes in clinically healthy dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4): 541–547.

37. Ruggerone, B; Giralardi, M; Paltrinieri, S; & Scarpa, P. (2018). Hematologic and biochemical reference intervals in Shetland Sheepdogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(4): 617–624.

38. Sharkey, L; Gjevre, K; Hegstad-Davies, R; Torres, S; Muñoz-Zanzi, C. (2009). Breed-associated variability in serum biochemical analytes in four large-breed dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(3): 375–380.

39. Sirois, M. (2015). *Laboratory Procedures for Veterinary Technicians* 6a ed. St. Louis, Elsevier, 440 p.

40. Stockham, L; Scott, MA. (2008) *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2d ed. Iowa, Wiley Blackwell, 928 p.

41. Syakalima, M; Takiguchi, M; Yasuda, J; Hashimoto, A. (1998). The canine alkaline phosphatases: A review of the isoenzymes in serum, analytical methods and their diagnostic application. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 46(1): 3–11.

42. Thrall, MA; Weiser, G; Alisson, RW; Campbell, TW. (2012) *Veterinary hematology and clinical chemistry*. 2a ed. Ames, Iowa State University Press, 776 p.

43. Todd, S; Davidsohn, I; Henry, JB. (1985) *Diagnostico clinico por el laboratorio*, 7a ed. Barcelona, Salvat, 1159 p.

44. Willard, MD. Tvedten, H. (2004). *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*, 4a. ed. St Louis, Elsevier, 448 p.

45. Willard, MD. Tvedten, H. (2011). Small animal clinical diagnosis by laboratory methods, 5a. ed. St Louis, Elsevier, 432 p.