



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA



**VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE INMUNORREACTIVIDAD DE TIPO TRIPSINA  
(TLI) EN CANINOS CON DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE INSUFICIENCIA  
PANCREÁTICA EXOCRINA ASISTIDOS EN EL HOSPITAL DE FACULTAD DE  
VETERINARIA**

“por”

Mariana GANDINI SCALABRINO  
Paola GONZÁLEZ VIVAS

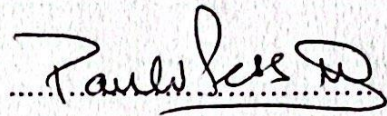
TESIS DE GRADO presentada como  
uno de los requisitos para obtener  
el título de Doctor en Ciencias  
Veterinarias  
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Estudio de casos.

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2023**

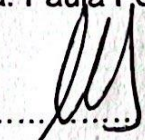
**PÁGINA DE APROBACIÓN**

Presidente de mesa

.....

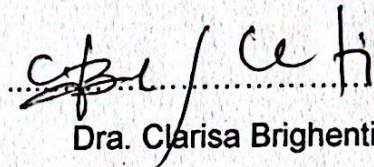
Dra. Paula Pessina

Segundo miembro (Tutor)

.....

Dra. Claudia Della Cella

Tercer miembro

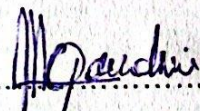
.....

Dra. Clarisa Brighenti


Fecha:

03 de Julio del 2023

Autores:

.....

Mariana Gandini Scalabrino

.....

Paola González Vivas

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestra tutora, la Dra. Claudia Della Cella, por brindarnos su conocimiento, tiempo y dedicación; por orientarnos y apoyarnos durante la realización de este trabajo para poder llevarlo a cabo.

A la Dra. Paula Pessina, por ser nuestra guía en el área de análisis clínicos, por su paciencia y voluntad para aclarar nuestras dudas, y por su importante colaboración y apoyo en este trabajo. Al Dr. Adrián Carzoli por su colaboración y buena disposición en cada momento.

A los tutores de los caninos que participaron en este proyecto, por su colaboración y confianza, gracias a ellos este estudio fue posible.

A los funcionarios de enfermería y laboratorio de análisis clínicos, por su colaboración en la extracción y procesamiento de muestras, y por compartir sus conocimientos.

Y por último, queremos agradecerles a nuestras familias, sobre todo a nuestros padres, por su apoyo incondicional durante toda la carrera. A nuestros amigos y parejas, por estar siempre presentes en este largo recorrido.

## TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS .....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS .....	5
ABREVIATURAS:.....	5
RESUMEN .....	7
SUMMARY .....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	11
2.1. Recordatorio anatómico del páncreas:.....	11
2.2. Secreción Pancreática Exocrina: .....	12
2.3. Insuficiencia pancreática exocrina en caninos: .....	15
2.3.1. Etiología.....	15
2.3.2. Signos clínicos.....	17
2.3.3. Diagnóstico.....	18
2.3.4. Tratamiento:.....	28
2. HIPÓTESIS.....	32
3. OBJETIVOS.....	32
3.1. OBJETIVO GENERAL .....	32
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
4.1. Criterios de selección de los individuos del grupo de enfermos.....	33
4.2. Criterios de selección de los individuos del grupo control.....	33
4.3. Toma de muestras .....	33
4.4. Procesamiento de las muestras.....	34
5. RESULTADOS .....	35
6. DISCUSIÓN.....	37
7. CONCLUSIONES.....	43
8. BIBLIOGRAFÍA.....	44
9. ANEXOS.....	48

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Tabla 1.</b> Secreciones del páncreas exocrino .....	12
<b>Tabla 2.</b> Principales procesos que cursan con malabsorción en el perro .....	18
<b>Tabla 3.</b> Interpretación de folato, cobalamina y TLI .....	24
<b>Tabla 4.</b> Rangos de referencia para el control del kit.....	34
<b>Tabla 5.</b> Resultado de TLI en el grupo control-subgrupo 1 (clínicamente sanos) ....	48
<b>Tabla 6.</b> Resultado de TLI en el grupo control-subgrupo 2 (clínicamente sanos, sin alteraciones hematológicas ni bioquímicas) .....	49
<b>Tabla 7.</b> Resultado de TLI en el grupo de enfermos.....	50
<b>Tabla 8.</b> Clasificación de resultados obtenidos de TLI en caninos enfermos muestreados según rango de referencia.....	53

### ABREVIATURAS:

AAP: Atrofia Acinar Pancreática

Ach: Acetilcolina

ALT: Alanina Aminotransferasa

AST: Aspartato Aminotransferasa

BT-PABA: n-benzoyl-l-tyrosyl-p-aminobenzoic acid

CCK: Colecistocinina

CH: Amilasa

cTLI: Inmunorreactividad similar a la tripsina canina

E.D.: Edad al diagnóstico

EEP: Enteropatía Perdedora de Proteínas

EPI: Exocrine Pancreatic Insufficiency

FAS: Fosfatasa Alcalina Sérica

FPA: Actividad Proteolítica Fecal

fTLI: Inmunorreactividad similar a la tripsina felina

FVET: Facultad de Veterinaria

GOT: Glutámico oxalacético Transaminasa

GPT: Glutamato Piruvato Transaminasa

IPE: Insuficiencia Pancreática Exocrina

LIP: Lipasa

PABA: Ácido Para-Aminobenzoico

PLI: Lipasa Pancreática Inmunorreactiva

PROT: Proteasa

RIA: Radioinmunoanálisis

SBID: Sobrecrecimiento Bacteriano del Intestino Delgado

S/D: Sin datos

SRD: Sin Raza Definida

TLI: Trypsin Like Immunoreactivity - Inmunorreactividad similar a la tripsina

UdelaR: Universidad de la República

## RESUMEN

La técnica de inmunorreactividad de tipo tripsina canina en el suero (cTLI) representa un parámetro indicador de la función pancreática exocrina, convirtiéndose en una de las pruebas que más se utiliza para el diagnóstico de insuficiencia pancreática exocrina (IPE), la cual se considera la prueba gold standard para esta patología. Los signos clínicos de las enfermedades del páncreas exocrino son inespecíficos siendo difícil de diferenciar de enfermedades del intestino delgado que pueden producir signos similares por una digestión deficiente. Por este motivo el páncreas es tan difícil de evaluar, siendo de suma importancia el uso de pruebas específicas pancreáticas para llegar a un diagnóstico definitivo. El objetivo de este trabajo fue el uso de la técnica de TLI en veintiséis caninos que se presentaron en la consulta de gastroenterología en el periodo de 2018-2022 en el Hospital de Facultad de Veterinaria, UdelaR, con diarreas crónicas y diagnóstico presuntivo de IPE mediante otras técnicas de laboratorio. Para seleccionar estos pacientes se tomó como parámetro de inclusión que presentaran la deficiencia de al menos una de las enzimas (amilasa, lipasa y/o proteasa) en el coprofuncional. Se obtuvo un 26% de caninos con una TLI menor a 2,5 ng/mL sugerente IPE. Por lo tanto, en este trabajo se concluyó que no estaría recomendada la medición de TLI de forma aislada y como única prueba en un paciente con sospecha de IPE. Además, se evidenció que existen varios factores que pueden alterar el resultado de la TLI canina. Se logró demostrar la importancia que tiene en el pronóstico del paciente, reconocer a tiempo los signos clínicos de IPE y seleccionar los métodos de diagnóstico acordes para llegar a un diagnóstico definitivo y un tratamiento adecuado para dicha patología, obteniendo así una evolución exitosa.

## SUMMARY

The canine trypsin-like immunoreactivity (cTLI) assay represents an indicator parameter of exocrine pancreatic function that measures trypsinogen and trypsin in serum. It is one of the most widely used tests for the diagnosis of exocrine pancreatic insufficiency (EPI), and is considered the gold standard test for the diagnosis of this pathology. The clinical signs of exocrine pancreas diseases are non-specific, making it difficult to perform a correct diagnosis. It is often mistaken for other conditions which can produce similar symptoms due to poor digestion, such as the ones of the small intestine. Thus, the use of specific pancreatic tests is extremely important to reach a definitive diagnosis. The objective of this work was to use the cTLI technique to diagnose twenty-six canines that presented themselves in the gastroenterology consultation at the hospital of the Faculty of Veterinary Medicine, UdelaR, from 2018 to 2022, with chronic diarrhea and presumptive diagnosis of EPI by another laboratory assay. To select these patients, the inclusion parameter was taken as having a deficiency of at least one of the pancreatic enzymes in the coprofunctional. A 26% of canines with a TLI less than 2.5 ng/mL suggestive of EPI were obtained. Therefore, we concluded that the measurement of TLI alone is not the best approach to perform a correct diagnosis of a patient with suspected EPI. Furthermore, it was evidenced

that there can also exist other factors that can alter the result of the cTLI assay. In summary, it was possible to demonstrate the importance of early recognition of clinical signs of EPI in the patient's prognosis. Likewise, by selecting the appropriate diagnostic methods, a more correct diagnosis and an adequate treatment for the pathology could be reached, which can increase the chances of obtaining a successful course of the disease.



## 1. INTRODUCCIÓN

La insuficiencia pancreática exocrina (IPE) representa una de las tantas patologías del tracto gastrointestinal, que pueden resultar en una mala digestión y malabsorción de nutrientes. Es un síndrome causado por la síntesis y la secreción insuficientes de enzimas pancreáticas (Steiner, 2010).

En los perros, los procesos patológicos subyacentes que pueden causar signos clínicos de IPE son la atrofia acinar pancreática (AAP), la pancreatitis crónica, la hipoplasia pancreática y la neoplasia pancreática (Ettinger & Feldman, 2007).

La edad de presentación es de 1 a 5 años, habiendo mayor incidencia en algunas razas como por ejemplo Pastor Alemán, Collies, Setter Inglés, Pastor Alsaciano y Chowchow. La sintomatología clínica característica comprende una diarrea osmótica de gran volumen, heces amarillentas o grisáceas, esteatorrea, importante pérdida de peso y flatulencias. Estos signos no son patognomónicos de la enfermedad ya que las enfermedades del intestino delgado pueden producir signos similares por una digestión deficiente (Ettinger & Feldman, 2007). Por este motivo en el diagnóstico diferencial de la IPE debemos tener en cuenta los trastornos de malabsorción del intestino delgado.

Para el diagnóstico de la IPE se han utilizado métodos indirectos, como el coprofuncional, la determinación de la elastasa fecal y tripsina fecal, considerándose estas pruebas poco específicas y sensibles respectivamente. En el caso de la elastasa, su principal limitación es que se trata de un método poco sensible en estadios precoces de la IPE. La medición de la tripsina inmunorreactiva (TLI) en suero tiene una alta sensibilidad y especificidad, por lo que se ha convertido en una de las pruebas de función pancreática que más se utiliza para el diagnóstico definitivo de IPE (Ettinger & Feldman, 2007). Existen diferentes inmunoensayos específicos para la especie canina (cTLI) y felina (fTLI). La TLI representa un importante parámetro indicador de la función pancreática exocrina, ya que el tripsinógeno es sintetizado únicamente por el páncreas, es liberado a la circulación y puede medirse su concentración. Por lo tanto, una disminución de la TLI sérica nos asegura una deficiencia pancreática. El uso de esta prueba es simple, se analiza una única muestra de suero con previo ayuno de 12-16 horas, sin necesidad de suspender la suplementación enzimática, en el caso que se haya iniciado un tratamiento. En los perros con IPE causada por atrofia o inflamación crónica, la cantidad de TLI que se derrama desde el páncreas hacia la circulación disminuye. El valor de la prueba de la función pancreática se debe a su capacidad para diferenciar si los signos clínicos se deben a una disfunción pancreática o a una enfermedad del intestino delgado (Ettinger & Feldman, 2007) debido a que una enfermedad intestinal no afecta la concentración de la TLI. La determinación de la TLI es la prueba de mayor valor para detectar la enfermedad en la fase subclínica (Wiberg & Westermarck, 2002). Por otra parte, la medición del folato sérico y la cobalamina son parámetros indicadores de la función pancreática exocrina, función intestinal, disbacteriosis y alteraciones metabólicas (Steiner, 2010).

El tratamiento de la IPE se basa en los siguientes puntos: un correcto manejo dietético, la suplementación con enzimas pancreáticas, suplementos vitamínicos y antibioticoterapia en caso de sobrecrecimiento bacteriano (Hall, Simpson & Williams, 2012).

El pronóstico a largo plazo es favorable en aquellos pacientes que presentan una respuesta al tratamiento durante las primeras semanas. El parámetro clínico más significativo para controlar la eficacia del tratamiento será el peso corporal, además de la disminución de la polifagia y del volumen fecal (Ettinger & Feldman, 2007).

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Recordatorio anatómico del páncreas:

El páncreas es un órgano accesorio del sistema digestivo, está situado retroperitonealmente, a nivel de la segunda y tercera vértebras lumbares. Guarda relaciones anatómicas cercanas con el estómago, hígado y duodeno (Ettinger & Feldman, 2007).

Está formado por un cuerpo, situado en la parte craneal del duodeno, un lóbulo derecho, localizado entre las dos hojas del mesoduodeno descendente y un lóbulo izquierdo, que discurre dentro del omento mayor, pasando entre el estómago y el colon transversal (Liebich & König, 2015).

Los perros generalmente tienen dos conductos pancreáticos. El conducto pancreático principal (*ductus pancreaticus*), el cual desemboca en el duodeno en la papila duodenal mayor con el conducto biliar; y el conducto accesorio (*ductus pancreaticus accessorius*) que desemboca en la papila duodenal menor. El lumen del conducto pancreático está separado del duodeno mediante el esfínter de Oddi, el cual es un esfínter muscular que es esencial para prevenir que el contenido duodenal entre al conducto pancreático (Steiner, 2010).

El páncreas se compone de una parte exocrina formada por células acinares y una parte endocrina formada por los islotes de Langerhans. Cada lóbulo pancreático está compuesto principalmente de células acinares que sintetizan y secretan enzimas digestivas, como la lipasa, la tripsina y la amilasa, que hidrolizan los lípidos, las proteínas y los carbohidratos, respectivamente (Simpson, 2008). Entre los lóbulos están los islotes de Langerhans que son agrupaciones de células neuroendocrinas en donde se sintetizan y secretan los polipéptidos reguladores, siendo los más importantes la insulina y el glucagón (Steiner, 2010).

Los vasos sanguíneos del páncreas provienen de la arteria celíaca y de la arteria mesentérica craneal. La arteria hepática, que discurre hacia la derecha, da origen a la arteria pancreaticoduodenal craneal para el lóbulo derecho del páncreas. El cuerpo y el lóbulo izquierdo están vascularizados por la arteria esplénica y por la arteria pancreaticoduodenal caudal, rama de la mesentérica craneal. Las venas del páncreas drenan a la vena porta. Los vasos linfáticos drenan en los nódulos linfáticos pancreaticoduodenales pertenecientes al linfocentro celíaco (Liebich & König, 2015). El páncreas está inervado por el sistema simpático y parasimpático del sistema nervioso, tanto las células acinares, las células de los islotes y la vasculatura están inervados por ambos sistemas. El sistema parasimpático estimula la secreción endocrina y exocrina del páncreas, mientras que el sistema simpático es el que inhibe la secreción de ambas (Budras, 2007). Las fibras simpáticas provienen del plexo solar mientras que las parasimpáticas derivan del tronco vagal dorsal (Liebich & König, 2015). El páncreas también tiene unas fibras aferentes sensoriales que desembocan en el ganglio celíaco, estas son las responsables del dolor intenso cuando se presenta pancreatitis aguda, crónica o cáncer (Getty, 1982).

## 2.2. Secreción Pancreática Exocrina:

Las principales funciones del páncreas como glándula exocrina son: la secreción de bicarbonato ( $\text{HCO}_3$ ) que tiende a neutralizar el pH ácido del contenido gástrico que fluye hacia el duodeno y la secreción de enzimas para la digestión luminal de carbohidratos, grasas y proteínas (Herdt, 2020).

El páncreas se compone de dos tipos de tejido glandular de diferente funcionalidad. Una pequeña parte, pero importante del tejido pancreático está dispuesta en islotes separados dentro del parénquima. Este conjunto celular se conoce como páncreas endocrino, el cual secreta hormonas directamente al torrente sanguíneo. Por otra parte, el páncreas exocrino, el cual abarca la mayor parte del tejido pancreático, elabora secreciones digestivas que se liberan a la luz intestinal.

Además de la síntesis y secreción de zimógenos digestivos y enzimas, el páncreas exocrino sintetiza y secreta otras moléculas, como el factor intrínseco, implicado en la absorción de cobalamina; la colipasa, necesaria para revertir la inhibición de la lipasa pancreática mediante sales biliares; un inhibidor de tripsina; factores antibacterianos, que evitan el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado (SBID) proximal (Tabla 1).

**Tabla 1.** Secreciones del páncreas exocrino

<b>Enzimas secretadas como zimógenos</b>	<b>Enzimas secretadas en forma activa</b>	<b>Otros productos secretores</b>
Tripsinógeno	Lipasa	Agua
Quimotripsinógeno	Amilasa	Bicarbonato
Proelastasa	Carboxilesterasa	Procolipasa
Profosfolipasa	Desoxirribonucleasa	Factor intrínseco
Kalikreinogeno	Ribonucleasa	Factores antimicrobianos

Procarboxipeptidasa

Inhibidor de tripsina  
secretora pancreática

Factores tróficos para el  
tracto intestinal

---

(Steiner, 2010)

Las células acinares secretan enzimas, y las células centroacinares junto a las células de los conductos secretan una solución electrolítica rica en bicarbonato sódico. Las células de los acinos poseen un retículo endoplásmico rugoso desarrollado el cual sintetiza gran cantidad de proteínas, las enzimas digestivas. Las enzimas pancreáticas capaces de digerir proteínas pueden ser potencialmente peligrosas para las propias células del páncreas por lo que estas se sintetizan como zimógenos, una forma inactiva. De esta manera, el páncreas cuenta con diversos mecanismos de defensa para evitar la autodigestión por parte de sus propias enzimas (Herdt, 2020).

Las proteínas almacenadas en los gránulos de zimógeno permanecen en el acino hasta que es estimulado. Entonces los gránulos de zimógenos se fusionan con la membrana celular y liberan su contenido a la luz del duodeno donde se transforman a su forma activa enzimática (Herdt, 2020).

La tripsina es la enzima pancreática más abundante, se sintetiza bajo la forma de una proenzima, tripsinógeno. Otras enzimas secretadas en forma inactiva son el quimotripsinógeno y procarboxipeptidasa (Herdt, 2020).

Para que ocurra la activación enzimática, suceden una serie de eventos que comienzan con liberación de la enteroquinasa en el intestino transformando el tripsinógeno a tripsina y las otras proenzimas son entonces activadas por la tripsina (Kaneko, Harvey & Bruss, 1997).

Otro mecanismo de defensa del páncreas es el factor inhibidor de la tripsina, es una proteína que se sintetiza simultáneamente a las enzimas digestivas. Existe la posibilidad de que este mecanismo falle desencadenando una pancreatitis aguda, en la cual se activan las enzimas proteolíticas y el páncreas sufre una autodigestión por sus propias enzimas (Herdt, 2020).

Por otro lado, existen las células centroacinares especializadas cuya función es modificar la composición electrolítica del fluido secretado por las células acinares. Las células centroacinares tienen en su membrana una proteína intercambiadora de cloro-bicarbonato que transporta bicarbonato fuera de la célula a cambio del cloro. El resultado es una secreción pancreática alcalina rica en bicarbonato que neutraliza la ingesta ácida que llega al duodeno procedente del estómago (Herdt, 2020).

En los conductos pancreáticos también están presentes células caliciformes que secretan mucus, el cual produce una barrera protectora contra el reflujo de bicarbonato y la degradación del epitelio del conducto por las enzimas digestivas. El

jugo pancreático alcalino previene el crecimiento de microorganismos ácido tolerantes, como los *Lactobacillus* y *Streptococcus* (Kaneko et al., 1997).

Existe una secreción pancreática basal en la mayoría de los animales, pero con la ingestión de alimento se desencadenan una serie de mecanismos neurales y hormonales, estos activan y controlan la secreción pancreática de agua, electrolitos y enzimas digestivas. Las hormonas dominantes son la secretina y la colecistocinina (CCK) (Kaneko et al., 1997). Las células pancreáticas poseen receptores de membrana para acetilcolina, colecistocinina y secretina. La CCK es el estímulo hormonal principal para las células acinares, y la secretina lo es para las células centroacinares y de los conductos (Herdt, 2020). Se sabe que la secretina potencia la acción de CCK sobre las células acinares y vice versa (Herdt, 2020).

La estimulación vagal de la secreción pancreática se origina a través de diversos estímulos. Comienza con la fase cefálica, a través de los sentidos vista y olfato del alimento. Continúa con la fase gástrica, cuando llega el alimento al estómago, este se distiende y produce el reflejo vagovagal y a consecuencia la secreción pancreática y finaliza con la fase intestinal, la más intensa. Esta fase intestinal está modulada por estímulos endocrinos y neuronales. La distensión del duodeno por parte del alimento provoca la estimulación de células secretoras pancreáticas mediante la acetilcolina (ACh), reforzando la estimulación vagal de las fases cefálica y gástrica. Luego ocurre la fase intestinal, que también implica estímulos endocrinos y neuronales. Esta fase comienza cuando el alimento procedente del estómago entra al duodeno y provoca su distensión, generando impulsos nerviosos que estimulan mediante ACh a las células secretoras pancreáticas. La estimulación química que resulta de la presencia del alimento en el duodeno es la parte endocrina de la fase intestinal. La producción de CCK en células endocrinas del duodeno es estimulada por los péptidos que se encuentran en la luz intestinal, provenientes de la digestión de las proteínas del alimento. Esta es transportada por la sangre hasta el páncreas uniéndose a receptores específicos situados en células acinares induciendo a la liberación de enzimas digestivas. Las grasas que llegan del estómago también estimulan la secreción de CCK. Por otro lado, el pH bajo del contenido que entra al duodeno estimula la secreción de secretina. La CCK estimula la secreción de enzimas que digieren proteínas y grasas, estas funcionan mejor en un pH alcalino por lo que las secreciones ácidas del estómago deben ser neutralizadas para aumentar la efectividad de estas enzimas. En el duodeno se dan las condiciones ácidas para estimular la secreción pancreática de bicarbonato a través de la secretina permitiendo la alcalinización del alimento. A medida que el alimento es digerido y absorbido, la secreción pancreática disminuye a niveles basales (Herdt, 2020).

Por otro lado, la lipasa pancreática es secretada en forma activa en el intestino, potenciando su acción junto a las sales biliares mejorando la eficiencia de la lipólisis. Esta presenta una actividad óptima en condiciones de pH alcalino e hidroliza triglicéridos a ácidos grasos y glicerol. En perros sanos, una pequeña cantidad de lipasa pancreática escapa del páncreas y entra a la sangre, en donde puede medirse como inmunorreactividad de la lipasa pancreática (PLI) (Kaneko et al., 1997).

La amilasa pancreática cataliza la hidrólisis del almidón y glucógeno obteniendo maltosa y glucosa. Su actividad óptima ocurre en presencia de aniones inorgánicos, como por ejemplo el cloro, y también requiere iones de calcio al ser una

metaloenzima. Al estar presente en otros órganos y fluidos, además del páncreas, es difícil diferenciarla por lo que puede llegar a ser un problema en el momento de diagnosticar una patología pancreática (Kaneko et al., 1997).

El tripsinógeno es secretado hacia el intestino, donde se activa a tripsina. En perros sanos, una pequeña cantidad de tripsinógeno escapa del páncreas y entra a la sangre permitiendo su medición en la prueba de inmunorreactividad de la tripsina (TLI). Existe también una tripsina formada en el páncreas que entra a la sangre, que se une a una antiproteasa contribuyendo también a la concentración de TLI. La tripsina y el tripsinógeno se eliminan vía renal y se excretan en la orina (Kaneko et al., 1997).

### **2.3. Insuficiencia pancreática exocrina en caninos:**

La insuficiencia pancreática exocrina (IPE) es un síndrome causado por la síntesis y la secreción insuficiente de enzimas pancreáticas (Steiner, 2010), lo cual produce una mala digestión de nutrientes, una malabsorción secundaria y por lo tanto un síndrome de mala nutrición (Rodríguez, 2018).

El páncreas exocrino tiene una gran reserva funcional secretora por lo que los signos clínicos de digestión insuficiente no aparecen hasta que se pierde el 90% de su capacidad secretora. La IPE resulta de un diagnóstico funcional que se basa en la medición de la capacidad secretora del páncreas mediante pruebas de función pancreática evidenciando una disminución de las enzimas pancreáticas (Ettinger & Feldman, 2007).

La IPE es considerada la causa más común de malabsorción en el perro (Simpson, 1991).

Las enzimas pancreáticas realizan funciones digestivas, pero también existen vías alternativas de digestión para algunos nutrientes. Esta actividad enzimática residual surge de la lipasa lingual, lipasa gástrica, pepsinas gástricas, esterases y peptidasas de la mucosa intestinal. Sin embargo en casos en que la reserva pancreática está gravemente comprometida estas rutas alternativas de digestión son insuficientes para una correcta digestión y resulta en la aparición de los signos clínicos (Hall, Simpson & Williams, 2012).

Esta insuficiencia secretora es consecuencia de la reducción marcada de la masa pancreática acinar debido a una atrofia acinar pancreática (AAP) principalmente (Tams, 2005). También puede ser secundaria a una pancreatitis crónica, obstrucción del conducto pancreático, hipoplasia pancreática congénita y neoplasias pancreáticas (Rodríguez, 2018).

#### **2.3.1. Etiología**

*Atrofia acinar pancreática (AAP) o Atrofia acinar pancreática juvenil:*

Es la causa más común de IPE en perros. La atrofia acinar pancreática (AAP) no inflamatoria afecta a perros jóvenes. Su etiología se desconoce, especialmente en razas como el Pastor Alemán, el Collie y Setter inglés. Es posible que la enfermedad se hereda como un carácter autosómico recesivo (Tams, 2005). Actualmente se sugiere una herencia poligénica, debido a que el concepto anterior sobre que la IPE en estas razas tiene un modo de herencia autosómico recesivo ha sido en gran parte abandonado. Los estudios realizados en la raza Pastor Alemán no han logrado identificar un gen específico asociado a esta patología, lo que sugiere que la IPE en

esta raza puede tener varias causas genéticas diferentes o podría ser el resultado de múltiples efectos. Además, no se han investigado las funciones que podrían desempeñar varios factores ambientales en asociación con antecedentes genéticos predisponentes (Xenoulis, 2020).

Esta atrofia se debe a la destrucción selectiva de las células acinares que producen las enzimas digestivas, lo cual lleva a una pérdida casi completa de la capacidad secretora (Westermarck & Wiberg, 2012). La atrofia acinar se ha dividido en una fase subclínica caracterizada por atrofia parcial e infiltración linfocítica, y una fase clínica caracterizada por atrofia grave. La pancreatitis linfocítica con destrucción activa de las estructuras acinares precede a la última fase de la atrofia, por lo que se prefiere el término pancreatitis linfocítica atrofica autoinmunitaria. Por lo tanto, que esta atrofia esté precedida por una infiltración linfocítica marcada, sugiere una base autoinmune para la enfermedad (Anderson, 1999; Tams, 2005). Sin embargo, la función endocrina del páncreas generalmente no se ve afectada (Wiberg & Westermarck, 2002; Ettinger & Feldman, 2007).

#### *Pancreatitis crónica recidivante:*

Es una causa habitual en gatos y seres humanos, en los perros podría considerarse una causa subyacente de la IPE. La pancreatitis crónica es un proceso patológico de larga evolución que consiste en una destrucción inflamatoria progresiva lenta del páncreas llevándolo a una fibrosis y por ende conduciendo a una pérdida progresiva del tejido pancreático y finalmente en una IPE. Si el paciente con IPE llega con sintomatología diabética, otras anormalidades endocrinas y disturbios intestinales; es probable que la etiología de la IPE sea por una pancreatitis crónica, esto lo diferencia de la IPE causada por atrofia acinar pancreática, ya que la pancreatitis tiene efectos adversos sobre las células insulares (Anderson, 1999; Birchard, 2002; Nelson & Couto, 2005). Los signos son los de una enfermedad gastrointestinal inespecífica pero cuando existe compromiso del páncreas endocrino pueden manifestar signos como polidipsia, poliuria, polifagia, aumento de la glucemia y glucosuria como consecuencia de la destrucción progresiva y fibrosis del páncreas (Ettinger & Feldman, 2007).

#### *Hipoplasia pancreática:*

Es una causa relativamente rara de IPE en perros e indistinguible de la AAP en varios aspectos, como por ejemplo la apariencia histopatológica del páncreas. La hipoplasia es una falla en el desarrollo de los acinos por lo tanto los perros son afectados en la etapa de cachorro y en consecuencia, no crecen normalmente. A diferencia de la AAP que se presenta en animales en torno a los 6 meses y 2 años de edad (Ettinger & Feldman, 2007).

#### *Neoplasia Pancreática:*

El cáncer primario de páncreas exocrino (adenocarcinoma) es raro en caninos, se presenta en pacientes gerontes, algunos autores citan al Airedale Terrier como una raza donde la patología estaría sobre representada (Nelson & Couto, 2005).

#### *Otras causas:*

Poco frecuentes de IPE en perros y gatos son la deficiencia de una enzima, en particular la lipasa (Ettinger & Feldman, 2007; Xenoulis, 2020) y la hiperacidez del duodeno que inactiva la lipasa (Ettinger & Feldman, 2007).

#### *Idiopática:*



Se identifica en cualquier raza, no existe predisposición de sexo ni edad (Ettinger & Feldman, 2007).

### **2.3.2. Signos clínicos**

Los signos de mala digestión generalmente aparecen antes de los 2 años de edad, aunque a veces puede ser después, pudiéndose asumir que el origen de la IPE en estos casos es por AAP (Westermarck & Wiberg, 2012). Si bien la enfermedad se ha diagnosticado en numerosas razas y sus cruza, existe mayor predisposición en las razas Pastor Alemán, Collies y Setter Inglés. No presentando predisposición sexual (Ettinger & Feldman, 2007; Rodriguez, 2018). En los casos de IPE inducida por pancreatitis aparece con mayor frecuencia en perros de edad avanzada (Pibot, 2008).

Por lo tanto, los signos clínicos de IPE están relacionados con maladigestión y malabsorción debido a menores concentraciones intra duodenales de enzimas pancreáticas, bicarbonato y otros factores resultante mala asimilación de las grasas, carbohidratos y proteínas (Kim et al., 2005).

Los signos clínicos típicos de IPE comprenden polifagia, heces amarillentas o grisáceas, aumento del volumen de las heces y la frecuencia de defecación, pérdida de peso y flatulencias (Ettinger & Feldman, 2007). En algunos pacientes se aprecia pelaje de mala calidad, y depleción muscular pronunciada (Tams, 2005). La diarrea puede mejorar como respuesta al ayuno o tras implementar dietas bajas en grasa. Otros síntomas descritos de IPE son la pica y la coprofagia, como consecuencia de las deficiencias nutricionales (Anderson, 1999; Pibot, 2008) así como un nerviosismo marcado por la búsqueda constante de alimentos. Se ha evidenciado agresividad, la cual se asocia al posible malestar abdominal debido a las asas intestinales pueden encontrarse distendidas por la presencia de alimento o gas (borborigmos y flatulencias) evidenciando signos de dolor a la palpación abdominal. Es poco frecuente que presenten vómitos (Rodriguez, 2018) pero de presentarse posiblemente sea como consecuencia de acceso a basura dada por la polifagia. Por otra parte, algunos perros pueden cursar con disorexia, lo cual se vio claramente asociada a mal pronóstico y muerte prematura, aunque probablemente en estos caso haya otra condición patológica asociada (Soertart, Rochel, Drut & Jaillardon, 2018).

La mayoría de los pacientes con IPE desarrollan una disbacteriosis en el intestino delgado, secundaria a la falta de secreción pancreática (Rodríguez, 2018). La causa de esta hipermutiplicación microbiana es la combinación de la depresión inmunitaria por la malnutrición, la motilidad alterada del intestino y la pérdida de propiedades antibacterianas del jugo pancreático.

Pueden presentarse síntomas como poliuria y polidipsia cuando la insuficiencia pancreática exocrina es causada por pancreatitis crónica complicada por diabetes mellitus (Pibot, 2008). En pocas ocasiones, los animales afectados presentan prolongación del tiempo de sangrado debido a una malabsorción severa de vitamina K (Nelson & Couto, 2010).

La IPE puede ser subclínica. Se han identificado concentración sérica de TLI muy disminuidas en numerosos perros sin ningún síntoma clínico. Algunos de estos perros fueron sometidos a una laparotomía exploratoria donde se evidenció que su masa pancreática estaba gravemente disminuida (Steiner, 2010).

El diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad es fundamental debido a que comparte síntomas clínicos con otras patologías digestivas, principalmente con la enfermedad inflamatoria intestinal, dado que los signos clínicos no son patognomónicos de IPE (Rodríguez, 2018).

**Tabla 2.** Principales procesos que cursan con malabsorción en el perro

<b>Etiología</b>	<b>Frecuencia de presentación</b>
Alergia o intolerancia alimentaria	Frecuente e importante
Parasitosis como giardiasis, nematodos	Frecuente e importante
Enteropatía que responde a antibióticos	Frecuente e importante
Enfermedad inflamatoria intestinal	
Neoplasias intestinales, especialmente linfoma	Importante pero infrecuente
Infecciones fúngicas como pitiosis e histoplasmosis	Regionalmente importante

(Nelson & Couto, 2010).

Como mínimo debe realizarse un cultivo fecal, sensibilidad alimentaria y examen parasitario en animales con cuadro clínico sugerente a IPE ya que pueden presentar infección gastrointestinal concurrente secundaria a la disrupción del ambiente y de la inmunidad gastrointestinal. El tratamiento de IPE no será efectivo si no se reconocen enfermedades subyacentes (Villiers & Blackwood, 2015).

### **2.3.3. Diagnóstico**

El diagnóstico de la IPE se realiza en base a la anamnesis y signos clínicos. Se deben diferenciar de otras patologías que cursan con diarrea crónica de intestino delgado y pérdida de peso, como causas infecciosas, parasitarias, metabólicas y anatómicas (Tams, 2005). Por lo tanto, el valor de las pruebas diagnósticas utilizadas se debe a su capacidad para diferenciar si los signos clínicos se deben a disfunción pancreática exocrina o enfermedad del intestino delgado (Ettinger & Feldman, 2007).

Por este motivo es necesario la realización de pruebas específicas de la función pancreática. El diagnóstico final es funcional y se basa en la medición de la capacidad secretora del páncreas (Ettinger & Feldman, 2007).

Como rutina se solicita hemograma completo, perfil bioquímico sérico, análisis de orina, coproparasitario, para valorar el estado general del animal, aunque normalmente los resultados de estas pruebas no son útiles para el diagnóstico de IPE, pero si son necesarios para descartar las enfermedades incluidas en el diagnóstico diferencial (Tams, 1998; Hall, Simpson & Williams, 2012).

Algunos perros presentan hipocolesterolemia y un aumento en la actividad de la alanina aminotransferasa (ALT) en el suero, así como también elevación de la fosfatasa alcalina en casos en que la IPE haya sido precedida de una pancreatitis. Esto refleja una lesión en los hepatocitos secundaria al aumento de la captación de sustancias hepatotóxicas a través de la mucosa del intestino delgado (Ettinger & Feldman, 2007; Hall et al., 2012). La presencia de hiperglucemia y glucosuria justifica la consideración de diabetes mellitus secundaria a pancreatitis crónica o hipoplasia pancreática (Tams, 2005). Las concentraciones de proteína en suero suelen ser normales, incluso cuando los pacientes están gravemente malnutridos. La linfopenia y la eosinofilia no son infrecuentes, pero otras anormalidades deberían considerarse como indicios de trastornos subyacentes adicionales o alternativos (Hall & col., 2012).

Se debe considerar realizar una evaluación ecográfica abdominal. En un estudio retrospectivo tomaron 34 caninos con diagnóstico de IPE, incluyendo 24 caninos con una concentración sérica de tripsinógeno menor a 2,5 ng/ml (sugerente de un páncreas insuficiente) y 10 caninos con una concentración sérica de tripsinógeno entre 2,5 - 5 ng/ml (sugerente de una insuficiencia pancreática parcial). Sólo en 22 de 34 caninos se logró visualizar y evaluar el páncreas. En esos 22 caninos se evidenció que el 68% presentaba un páncreas de apariencia ecogénica normal, con forma, márgenes y ecogenicidad normal, ecoestructura homogénea y sin alteraciones en el ducto pancreático, pero si presentaba menor espesor del páncreas en todos los casos. El otro 32% presentó una o más anormalidades. Sin embargo, el 85% de todos los caninos presentó anormalidades a nivel gastrointestinal, los hallazgos más comunes fueron dilatación de las asas intestinales, presencia de contenido intestinal líquido, peristaltismo disminuido y mucosa intestinal hiperecogénica. Estos datos de bajo porcentaje de anormalidades en el parénquima pancreático se pueden explicar considerando que la mayor causa de IPE es AAP, en la cual hay una atrofia del parénquima sin fibrosis ni calcificaciones. Por lo tanto sugiere que en caninos con IPE el páncreas se encuentra disminuido en su espesor y hasta ilocalizable en algunos casos debido a la atrofia del parénquima. Así mismo, en un examen ecográfico donde se hallan alteraciones gastrointestinales no se debe excluir una evaluación pancreática (Pelligra, Puccinelli, Marchetti & Citu, 2022).

## **Diagnóstico laboratorial:**

### **2.3.3.1. Análisis sanguíneos**

#### **Técnica de inmunorreactividad de tipo tripsina (TLI)**

La tripsina es una proteínasa sérica que hidroliza las uniones peptídicas de la lisina o arginina. Las células acinares pancreáticas la sintetizan en forma de proenzima inactiva, el tripsinógeno. Luego de la secreción del líquido pancreático hacia el intestino, la enteroquinasa convierte el tripsinógeno a la forma activa, tripsina, donde funciona como enzima digestiva (Meyer & Hervey, 2007).

La medición de inmunorreactividad de tipo tripsina canina en el suero (cTLI) mediante RIA se ha convertido en una de las pruebas de función pancreática que más se utiliza para el diagnóstico de IPE (Ettinger & Feldman, 2007). La determinación de TLI puede realizarse mediante métodos de radioinmunoanálisis (RIA), ELISA o quimioluminiscencia. La mayoría de los laboratorios determinaron esta inmunorreactividad mediante pruebas de ELISA o quimioluminiscencia automatizada (Ceron, 2015).

La prueba de TLI es específica de especie y la concentración en suero de TLI es altamente específica (cerca del 100%) y sensible (cerca del 100%) para el diagnóstico de IPE (Vaden, Knoll, Smith, & Tilley, 2011).

En un páncreas normal, el recambio fisiológico de las células acinares pancreáticas permite la fuga de pequeñas cantidades de tripsinógeno en la sangre, de lo contrario en un animal con IPE, la cantidad de tripsinógeno sintetizado en las células acinares pancreáticas se reduce drásticamente, por lo tanto la concentración de tripsinógeno en la sangre también se reduce severamente (Dossin, 2011). Esta prueba mide la cantidad de tripsinógeno que se activa a tripsina y se excreta desde el páncreas hacia la circulación general. Debido a que el tripsinógeno se origina exclusivamente en el páncreas, la TLI representa una medición indirecta de la masa funcional del páncreas (Kaneko et al., 1997).

El tripsinógeno posee una vida media circulante corta (30 minutos), tiene un bajo peso molecular (aproximadamente 24.000 daltons) y no se une a otras proteínas séricas. Esta combinación facilita su rápida eliminación vía renal por filtración glomerular. Una vez filtrado por el glomérulo, el tripsinógeno sufre una catabolización tubular (Rodon, 2017).

El uso de esta prueba es simple, se analiza una única muestra de suero obtenida tras el ayuno de alimento de 12-16 horas. En los perros con IPE causada por atrofia o inflamación crónica, la cantidad de tripsina que se derrama desde el páncreas hacia la circulación disminuye. La muestra necesaria para realizar la prueba de TLI son 3 ml de sangre venosa, en un tubo seco, sin anticoagulantes. Se debe separar el suero del coágulo de sangre y trasladarlo a un tubo nuevo sin aditivos. La muestra de suero para TLI es muy estable (Hall & Simpson, 2012). La muestra se remite refrigerada. El almacenamiento de la muestra a corto plazo, 1-2 días, a temperatura ambiente es aceptable. Se recomienda congelar para el almacenamiento más prolongado.

La muestra es estable en las siguientes condiciones (Vaden et al., 2011):

- Refrigerada (2 - 8°C) hasta por 2 semanas.
- Congelada (-20°C) hasta por varios años.

Williams en 1983 comprobó en un estudio que, la TLI medida en suero de perros control fue la misma en la muestra recién tomada y luego de congeladas por 5 años.

Los perros con IPE causada por una reducción de la masa pancreática tienen niveles basales menores de 2,5 ng/ml, mientras que los perros sanos tienen una concentración basal mayor de 5 ng/ml.

Cuando la concentración se encuentre entre 2,5 y 5 ng/ml, denominada zona gris, el perro puede no presentar IPE o presentar una IPE parcial, por lo que deberá repetirse el análisis. Esto se puede deber a: un ayuno incorrecto, una recuperación de la función pancreática luego de una pancreatitis, exposición del suero al excesivo calor durante la remisión de muestras y/o animales en fase subclínica de IPE. Los pacientes que persisten en la zona gris (2,5 a 5 ng/ml) probablemente presenten una IPE parcial que pueda progresar a una IPE completa (Tams, 2005). Hasta el presente la medición de TLI es la prueba de función pancreática de más valor para detectar la enfermedad en fase subclínica (Wiberg & Westermarck, 2002). Las concentraciones anormalmente bajas de cTLI en el suero (menor a 2,5 ng/ml) acompañado de los signos clínicos típicos de digestión deficiente, se consideran diagnóstico definitivo de IPE grave. Dado que el tripsinógeno no se absorbe en la luz intestinal, la enfermedad intestinal no afecta la medición de la TLI y además se elimina por filtración glomerular, por lo que una disfunción renal que se asocia a la enfermedad pancreática puede originar un aumento de la TLI en suero (Nelson & Couto, 2010).

Una concentración de TLI normal (mayor a 5 ng/ml) no excluye una disfunción pancreática leve (Ettinger & Feldman, 2007), por lo cual pueden observarse dos escenarios donde la TLI sérica puede ser normal a pesar de que el paciente presente IPE. Uno se debe a la deficiencia aislada de lipasa pancreática, la cual es la enzima limitante de la digestión pancreática. Por lo tanto, los pacientes con una deficiencia aislada de lipasa pueden tener síntomas de IPE pero presentar una concentración sérica de TLI normal (Xenoulis, 2020). Otro escenario donde la concentración de TLI es normal en un paciente con IPE es un paciente con el conducto pancreático obstruido, pero dichos casos aún no se han descrito en la literatura. Igualmente se cree que dichos casos son extremadamente raros (Steiner, 2010).

El aumento de TLI también se puede correlacionar con un estadio inicial de una pancreatitis ya que cuando hay una lesión o inflamación pancreática la tripsina se libera a la circulación general pero su vida media es muy corta, por lo tanto tiene poca sensibilidad en el diagnóstico de pancreatitis aguda (Ceron, 2015). Una TLI alta en pacientes con disfunción pancreática puede ser el resultado de una enfermedad inflamatoria aguda en el tejido residual. En el caso de la pancreatitis linfocítica atrófica es una enfermedad gradualmente progresiva en perros con signos clínicos, estos pueden presentar una TLI dentro del rango de referencia (Wiberg & Westermarck, 2002). Un estudio realizado para determinar el efecto que causaría la toma de muestra de tejido pancreático en los niveles de TLI en perros clínicamente sanos, concluyó que la TLI aumentó luego de una punción aspiración intraoperatoria o una biopsia pancreática, ocasionando una inflamación, necrosis, hemorragia y depósitos de fibrina en el páncreas (Cordner et al., 2010).

Aunque la prueba de TLI es bastante sensible pueden darse falsos negativos frente a casos de IPE, debido a:

- una pancreatitis simultánea, aumenta la cantidad de tripsina que pasa al suero arrojando resultados dentro del intervalo de referencia.
- un fallo renal, también puede arrojar un falso negativo ya que el tripsinógeno filtrado es catalizado en las células epiteliales de los túbulos renales. Una

disminución en la filtración renal aumenta la vida media de la tripsina circulando en suero. Por esto, la concentración de TLI puede estar dentro de su rango de referencia a pesar de existir una IPE (Latimer et al., 2005).

- la administración de dexametasona en los 7 días previos a la extracción sanguínea da valores aumentados de TLI (Rodon, 2017).

- presencia de una pancreatitis crónica concurrente (Rodon, 2017).

- una desnutrición proteica extrema, esto se debe a que hay una respuesta adaptativa de la síntesis de enzimas pancreáticas frente a una dieta pobre en proteínas (Dossin, 2011).

- medicamentos capaces de producir una pancreatitis aguda, pueden elevar los valores de TLI (organofosforados; azatioprina, asparaginasa, tiazidas, furosemida, estrógenos, sulfas, tetraciclinas, procainamida, bromuro de potasio) (Nelson & Couto, 2010).

Un estudio reciente evaluó la variabilidad de los marcadores pancreáticos (actividad de la lipasa, lipasa específica y TLI) durante una fase de inducción y recuperación de una injuria renal en un modelo experimental en caninos, se concluyó que el aumento en los biomarcadores no se correlacionan con el aumento de la creatinina. Por lo tanto, existe una correlación moderada no significativa entre el aumento de la creatinina y la TLI. La excreción renal documentada por un aumento en la creatinina no afecta la medición de estos biomarcadores. Las concentraciones de los biomarcadores se ven afectados por factores prerrenales como su producción pancreática y activación enzimática (Hulsebosch et al., 2015).

La TLI es afectada por lipemia, pero no por hemólisis ni hiperbilirrubinemia (Dossin, 2011).

Muy rara vez, la IPE es el resultado de obstrucción del conducto pancreático, en este caso, la concentración sérica de TLI puede ser normal porque el páncreas está funcionando de forma adecuada. Si se sospecha de obstrucción del conducto pancreático con una concentración normal de TLI, un ensayo de la actividad proteolítica fecal podría contribuir al diagnóstico (Vaden et al., 2011). La medición de la TLI no sirve para evaluar una disfunción pancreática en caninos con diabetes mellitus (Hamilton, O'Kell & Gilor, 2012).

### **Cobalamina sérica**

Se recomienda la medición de cobalamina sérica en los animales con IPE debido a que esta suele encontrarse disminuida como consecuencia de una deficiencia del factor intrínseco pancreático, necesario para la absorción de cobalamina en el íleon. Por otro lado, la concentración de folato sérico suele encontrarse alta en la mayoría de los pacientes con IPE, pudiendo indicar SBID, aunque la sensibilidad y la especificidad de la alta concentración de folato para el diagnóstico de SBID son pobres. Las concentraciones de vitamina E están disminuidas en perros con IPE (Tams, 2005).

La cobalamina se obtiene de la dieta, se libera de las proteínas ingeridas mediante la acción del ácido y la pepsina del estómago. Esta se une a la haptocorrina. Las enzimas pancreáticas degradan la haptocorrina y se libera la cobalamina, esta se une al factor intrínseco. Existe un receptor específico para el factor intrínseco, cubilina, localizado en los enterocitos del íleon que absorberá la cobalamina. Esta es fundamental para la síntesis de ácidos nucleicos, particularmente para las células de alta renovación, como son los enterocitos. Una deficiencia de cobalamina afecta la

capacidad de división de las células, y una marcada deficiencia lleva a una atrofia de las criptas intestinales y malabsorción de nutrientes. La medición de cobalamina debe interpretarse junto al folato (Ceron, 2015).

En un estudio observacional de cohorte realizado en 299 perros, a lo largo de 6 años, descubren como factor de riesgo la hipocobalanemia al momento del diagnóstico de IPE. Se vio una relación directa entre perros que presentaron hipocobalanemia al momento del diagnóstico de IPE y su muerte temprana. Además los perros que presentaban hipocobalanemia eran significativamente mayores que aquellos que presentaban concentraciones séricas de cobalamina normales (Soetart et al., 2018).

La cobalamina puede estar aumentada en casos de suplementación vitamínica y se encontrará disminuida en enfermedad intestinal que afecta el íleon, sobrecrecimiento bacteriano (las bacterias consumen cobalamina) y defecto congénito de la absorción. En los casos de perros con IPE, la cobalamina puede estar disminuida por la deficiencia de enzimas pancreáticas que liberan a la cobalamina de la haptocorrina, por reducción del factor intrínseco y también por SBID secundario. En los perros raza Schnauzer gigante, un defecto de absorción hereditario puede impedir la asimilación de la cobalamina (Latimer et al., 2005).

### **Folato sérico**

La mayoría del folato proviene de la dieta, este se encuentra en forma de poliglutamato, que se debe digerir y pasar a monoglutamato por la acción de enzimas carboxipeptidasas que están en la pared intestinal. Luego se absorben en el intestino proximal mediante transportadores específicos. El folato se encontrará disminuido en enfermedades del intestino delgado proximal y por la acción de fármacos (como por ejemplo, fenitoína o sulfasalazina). El aumento en la medición del folato estará dada por un sobrecrecimiento bacteriano, en los casos de IPE y también secundaria a una hipocobalanemia severa (Ceron, 2015). El folato se puede encontrar bajo en perros con IPE, lo que sugiere una deficiencia o enfermedad inflamatoria o infiltrativa concomitante en yeyuno (Ettinger & Feldman, 2007).

Las determinaciones de folato y cobalamina se realizan simultáneamente:

- Hay un aumento en la concentración de folato y una disminución en la concentración de cobalamina en casos de IPE y también cuando hay un exceso de crecimiento bacteriano.
- Hay una disminución de las concentraciones de folato y cobalamina séricos en enfermedad difusa y grave del intestino delgado y a veces en IPE. (Latimer et al., 2005)

Un aumento en la concentración de folato y/o una reducción de la cobalamina coincidente con una TLI en el rango de referencia implican una enfermedad del intestino delgado proximal (Meyer & Hervey, 2007).

**Tabla 3.** Interpretación de folato, cobalamina y TLI

<b>Enfermedad</b>	<b>Cobalamina</b>	<b>Folato</b>	<b>TLI</b>
IPE	Disminuido	Normal o Elevado	Disminuido
Sobrecrecimiento bacteriano	Disminuido	Elevado	Normal
Enfermedad del intestino delgado proximal	Normal	Disminuido	Normal
Enfermedad del intestino delgado distal	Disminuido	Normal	Normal
Enfermedad intestinal difusa	Disminuido	Disminuido	Normal

(Ceron, 2015).

### **Amilasa**

La amilasa circulante en sangre proviene principalmente del páncreas, hígado e intestino delgado y se elimina mediante filtración glomerular. En un animal normal, la amilasa que se mide en sangre es principalmente de origen intestinal, ya que en una IPE o una extirpación del páncreas no reducen los valores sanguíneos. La medición de amilasa se realiza mediante métodos espectrofotométricos. La actividad de la amilasa puede verse disminuida en muestras lipémicas. Si esta se encuentra aumentada entre 3 a 4 veces de su valor normal es probable que el animal padezca de una pancreatitis, sin embargo, el grado de aumento de la amilasa no se correlaciona con la gravedad del cuadro. El pico de aumento se alcanza a las 24 horas y luego los valores retornan a la normalidad en 8 a 14 días. Existe un gran número de enfermedades que pueden presentar un aumento leve de la amilasa, como por ejemplo, la diabetes mellitus, inflamación gastrointestinal, linfoma, hemangiosarcoma y enfermedad hepatoiliar. El aumento de amilasa también puede estar dado por una disminución en su eliminación por insuficiencia renal o inducida por fármacos (por ejemplo, furosemida, glucocorticoides, lipasa, bromuro potásico, sulfonamidas, tetraciclinas, entre otros) Una disminución de los valores sanguíneos de amilasa no tiene significación clínica. En el diagnóstico de pancreatitis con esta medición tiene una baja sensibilidad y especificidad, por lo que se sugiere que sea evaluada junto a la lipasa (Ceron, 2015).



## **Lipasa**

La lipasa sérica tiene origen principalmente en el páncreas o estómago y es eliminada mediante filtración glomerular. Existen diferentes métodos colorimétricos para la medición de la actividad de la lipasa. La hemólisis disminuye la actividad de la lipasa. Las causas del aumento de la lipasa pueden deberse a un aumento en su liberación. Un animal que esté cursando con pancreatitis suele aumentar 3 veces o más su liberación, esta aumenta a las 24 horas y alcanza su pico a los 2 a 5 días posteriores. También puede verse aumentada en situaciones como peritonitis, gastritis, enteritis, obstrucción intestinal, enfermedad hepatobiliar, manipulación de vísceras abdominales y en algunas neoplasias. Los corticoides pueden llegar a aumentar 5 veces el valor basal de la lipasa. Por lo tanto, la lipasa puede verse aumentada en otras patologías, no es específica del páncreas (Mansfield, 2015). La lipasa puede verse disminuida en su eliminación por una insuficiencia renal. Una disminución de la lipasa no suele tener significación clínica. En animales con IPE la lipasa suele ser normal (Ceron, 2015). Por lo tanto, las concentraciones de lipasa y amilasa séricas no tienen valor diagnóstico para el diagnóstico de IPE, ya que pueden encontrarse levemente disminuidos en perros con IPE.

### **Lipasa Pancreática inmunorreactiva (PLI)**

La lipasa pancreática es aquella que su origen es exclusivamente en el páncreas. Es la prueba más sensible y específica para el diagnóstico de pancreatitis en el perro y gato. Existen dos pruebas que determinan la lipasa pancreática y usan anticuerpos específicos contra esta enzima. Una prueba cuantitativa utiliza ELISA y otra cualitativa en forma de test rápido en placa. El aumento de la lipasa pancreática específica se debe principalmente a una pancreatitis aguda. También puede verse aumentada en inflamaciones no pancreáticas o en situaciones de shock, por ejemplo, en una enfermedad inflamatoria intestinal, gastritis, insuficiencia renal crónica, estados de shock o hipoperfusión del páncreas. Algunos fármacos como el bromuro de potasio y el fenobarbital pueden causar un aumento de la PLI, aún no está claro si es debido a una pancreatitis secundaria a esos fármacos o por inducción medicamentosa (Ceron, 2015).

Los resultados específicos de cPLI con un valor menor a 200 ug/l se consideran normales, los resultados mayores a 400 ug/l son altamente sugestivos de pancreatitis. Existe una zona gris entre 200-400 ug/l en la cual se aconseja volver a analizar al paciente (Mansfield, 2015).

### **Prueba del PABA**

El ácido para-aminobenzoico (PABA) se utilizaba anteriormente. El BT-PABA es un péptido sintético que se administra vía oral (a dosis de 16,7 mg/kg de peso corporal) y es hidrolizado por la quimotripsina pancreática liberándose PABA. Este es absorbido, pasando a la sangre y se excreta por la orina. El perro presenta picos de concentración de PABA en sangre a las 2-3 horas de administrarse por vía oral el BT-PABA. Una concentración sanguínea de PABA por debajo de 85 mg/dl suelen indicar IPE, a veces puede arrojar falso-negativos en casos de enfermedad intestinal o crecimiento bacteriano excesivo (Latimer et al., 2005).

### **2.3.3.2. Análisis fecales**

La esteatorrea generalmente se aprecia de forma macroscópica. De forma microscópica podemos evidenciar materiales no digeridos o que no se han absorbido mediante técnicas de tinción especiales. Es un examen cualitativo que tiene muchos resultados falso-negativos o falso-positivos, por lo que se puede utilizar como técnica de diagnóstico preliminar en la clínica debido a que son de baja sensibilidad y especificidad. La recolección de heces durante 3 días puede aumentar la sensibilidad y especificidad de la prueba, pero hay que examinar a la vez frotis fecales procedentes de animales sanos con la misma dieta (Latimer et al., 2005).

#### **Coprológico**

Brinda información del aspecto macroscópico de la materia fecal (amarillenta o grisácea, espumosa, grasosa), luego se diluye la muestra en suero fisiológico, se evaluará su pH y se realiza la valoración microscópica de la que se desprende el grado de digestión de los carbohidratos, lípidos y proteínas. El examen microscópico de heces para evidenciar grasas no digeridas, almidón y fibras de músculos, tampoco es útil: debido a la turbidez del plasma y a que otras patologías pueden causar malabsorción. Normalmente se asocia un aumento subjetivo marcado en la grasa fecal con IPE, pero es muy poco sensible. Además, los perros con IPE presentan heces normales en forma intermitente (Latimer et al., 2005).

#### **Elastasa fecal**

Su medición puede tener utilidad en perros con IPE a consecuencia de una pancreatitis crónica o por la obstrucción del conducto pancreático, en los que los resultados de TLI pueden ser engañosos. Es la prueba de elección cuando la medición de tripsina en suero no se puede realizar (Hall et al., 2012). La elastasa es una enzima pancreática y se ha desarrollado un ELISA específico de especie. Presenta una sensibilidad de 95,3% (Vaden et al., 2011) y una especificidad 76,2% (Steiner et al., 2006). Es una proteasa formada como zimógeno en el páncreas, al entrar al lumen intestinal, esta enzima se activa y se utiliza para digerir la elastina de la ingesta. La elastasa canina no se degrada de manera apreciable dentro del tracto gastrointestinal por lo cual puede medirse en las heces mediante la técnica de ELISA (Vaden et al., 2011). Al igual de como ocurre con la TLI, la medición no se ve afectada por la suplementación enzimática. Cuando el resultado de la prueba es un valor menor a 10 ug/g, es sugestivo de IPE. Sin embargo, un valor de 10 ug/g también puede darse en perros sanos, por lo tanto es una prueba que puede arrojar falsos positivos. En un estudio, 6 de 26 perros con una concentración fecal disminuida de elastasa pancreática demostraron tener una concentración sérica normal de TLI. Los perros con un resultado falso positivo de IPE presentaban una concentración de CCK significativamente más baja que los perros con un positivo verdadero (Steiner, 2010). Esto puede indicar que pacientes con patologías crónicas del intestino delgado pueden tener menos células neuroendocrinas en su mucosa intestinal, provocando una disminución en la secreción pancreática por una baja estimulación, que a su vez puede estar asociada a falsos positivos de la concentración fecal de elastasa. Por lo tanto, si se utiliza la prueba de elastasa fecal para el diagnóstico de IPE, cuyo resultado sea positivo debe verificarse mediante la determinación sérica de TLI (Steiner, 2010).

### **Tinción de Sudan III directa**

Se mezcla la tinción con las heces en un portaobjetos formando una pasta líquida, se cubre con un cubreobjetos y se examina microscópicamente. El aumento de grasa neutra es indicativo de mala digestión e IPE. La excreción de grasa en materia fecal es una prueba de detección racional y contribuye a diferenciar la mala digestión secundaria a IPE (positiva para grasas no digeridas) de la malabsorción (positiva para grasas digeridas) (Willard & Tvedten, 2004).

### **Ácidos grasos**

Se detectan con una modificación de tinción de Sudan III. Consiste en agregar ácido acético al 36% a la mezcla de las heces con tinción de Sudan III. Los ácidos grasos se examinan microscópicamente (objetivo en seco de 40-45x), se ven como glóbulos anaranjados. La presencia de 10 o más glóbulos por campo microscópico se considera anormal y sugiere malabsorción (Latimer et al., 2005).

### **Tinción de Lugol**

Identifica el almidón, la presencia de este en las heces puede indicar deficiencia de amilasa causada por IPE. La amilorreya también puede deberse a dietas ricas en almidón o a enfermedades que aceleran el tránsito intestinal (Willard & Tvedten, 2004).

### **Frotis fecal sin teñir**

La presencia de fibras musculares sin digerir en el frotis de animales con dieta a base de carne, indican deficiencia de proteasa a causa de una IPE. Esta prueba no se recomienda (Willard & Tvedten, 2004).

### **Actividad proteolítica fecal (FPA)**

La tripsina, la quimotripsina y carboxipeptidasas A y B son las principales proteasas fecales de origen pancreático. Estas proenzimas se secretan en el páncreas y se activan en el duodeno. La enteroquinasa producida por la mucosa duodenal cataliza la activación del tripsinógeno a tripsina, y luego la tripsina activa las otras proteasas. En perros con IPE grave se ha observado una actividad proteolítica fecal baja. Los métodos semicuantitativos más útiles para medir la actividad son el método de la azocaseína y la difusión enzimática radial en agar con un sustrato de caseína. Esta prueba debe medirse en varias muestras debido a que los resultados presentan variaciones diarias (Ettinger & Feldman, 2007). La FPA puede arrojar falsos negativos, por lo que no se recomienda su uso (Steiner, 2010). Las bacterias del intestino también pueden producir enzimas proteolíticas, las cuales producirán resultados falsos negativos (Villiers & Blackwood, 2015).

### **Pruebas de digestión de gelatina**

Estas son cualitativas y arrojan bastantes resultados falso-positivos y falso-negativos, por lo que no suelen realizarse. Se debe hacer repeticiones de la prueba a causa de la fluctuación diaria de la concentración de proteasa en las heces. La falta de digestión de la gelatina indica deficiencia de proteasa, puede haber una falta de digestión con presencia de secreción de proteasa pancreática, siendo un falso negativo o por inactivación total de la enzima en el intestino. Las proteasas bacterianas pueden

interferir en la digestión de la gelatina en ausencia de la proteasa pancreática, determinando un resultado falso positivo (Latimer et al., 2005).

**Pruebas basadas en sustrato de caseína:** No se utilizan en la práctica diaria (Latimer et al., 2005).

### **Inhibición de alfa-proteasa**

El inhibidor de la alfa proteasa es una proteína que se pierde en el intestino en aproximadamente en la misma proporción que la albúmina y otras proteínas de tamaño similar. Es resistente a la degradación en el lumen intestinal por parte de otras proteinasas y permanece intacto, posibilitando el ensayo. Este proporciona una medida de pérdida general de proteína en el intestino y puede contribuir al diagnóstico de niveles anormales de pérdida de proteínas. Los aumentos de la alfa proteinasa se asocian a la enteropatía perdedora de proteínas (EEP) causando panhipoproteinemia. Esta prueba se usa muy poco. Es una prueba específica de especie y se ha validado un ELISA exclusivo para perros y gatos adultos (Vaden et al., 2011).

### **Grasa fecal total**

Esta prueba se realiza en una parte de muestra de heces, recogida durante 24 horas. La cantidad normal de grasa excretada en perros debe ser menor a 7 gramos cada 24 horas. Si presentan cantidades mayores de grasa indican esteatorrea y pueden ser debido a una mala digestión o malabsorción. Es un método relativamente rápido y poco costoso para evaluar en forma apropiada a los pacientes en busca de condiciones de malabsorción o mala digestión. La Tripsina inmunorreactiva ha reemplazado ampliamente la excreción de grasa fecal para el diagnóstico de IPE (Vaden et al., 2011).

#### **2.3.4. Tratamiento:**

Una vez que se presentan los signos clínicos de IPE está indicado comenzar con el tratamiento. Los perros asintomáticos con AAP parcial e IPE subclínica no necesitan tratamiento (Ettinger & Feldman, 2007).

El tratamiento de IPE consiste en una suplementación con enzimas pancreáticas, modificación dietética, suplemento vitamínico y antibioticoterapia. El parámetro clínico para evaluar la eficacia del tratamiento será la ganancia de peso. Los perros ganan entre 0,5-1kg por semana y la diarrea y otros signos clínicos, como polifagia y coprofagia, suelen resolverse en 4-5 días (Hall & col., 2012).

El tratamiento se fundamenta en la suplementación con enzimas pancreáticas exógenas en cada comida. Existen variedad de fármacos con enzimas pancreáticas en diferente presentación los cuales están compuestos por pancreatina, amilasa, lipasa y proteasa. Sólo una pequeña proporción de las enzimas pancreáticas administradas por vía oral permanecen funcionalmente intactas al llegar al intestino delgado. Existen reportes que se puede perder hasta un 85% de la actividad de las enzimas pancreáticas en el estómago debido al pH ácido y/o la acción de pepsinas gástricas (Xenoulis, 2020). Por lo tanto se ha visto que los que generan un mejor efecto terapéutico son aquellas presentaciones de cápsulas con recubrimiento entérico debido a que evita que las enzimas sean inactivadas por la acidez gástrica. Ha habido debates sobre la eficacia comparativa de diferentes productos para el tratamiento de la IPE (Kumar, Ilyas, Thakur & Singh, 2018) los cuales arrojaron

resultados contradictorios. Un estudio inicial sugirió que las preparaciones con cubierta entérica eran menos efectivas que las preparaciones sin cubierta, mientras que un estudio más reciente realizado sugirió que no había diferencia entre productos con recubrimiento y sin recubrimiento (Xenoulis, 2020).

La dosis de enzimas pancreáticas no está estandarizada, depende del caso en particular. En general se comienza con una dosis de 15.000 unidades de enzimas pancreáticas cada 10 kg de peso vivo en cada comida. Se recomienda fraccionar el alimento en 2 a 3 tomas diarias. La administración en exceso no suele provocar efectos secundarios, se han evidenciado estomatitis y hemorragia oral en unos pocos casos (Rodríguez, 2018). Otra alternativa más económica es la administración de páncreas crudo bovino o porcino, se recomienda administrar entre 100-150 gramos cada 20 kg de peso vivo (Hall & col., 2012).

La suplementación del alimento con enzimas pancreáticas es un tratamiento de por vida (Rodríguez, 2018).

En los perros que no responden satisfactoriamente al tratamiento puede ser útil modificar la dieta. Se ha demostrado que una dieta muy digerible, baja en fibra y moderada en grasa puede aliviar los signos clínicos de flatulencia, borborigmos, aumento del volumen fecal y la frecuencia de defecación. Se ha considerado que una dieta baja en grasa es útil porque los suplementos de enzimas aislados no pueden restaurar la absorción normal de la grasa, para evitar la esteatorrea y la diarrea secretoria, y además, la lipasa se destruye fácilmente por el ácido gástrico. Las dietas hipoalergénicas pueden ser beneficiosas para algunos perros con IPE, especialmente al inicio del tratamiento (Ettinger & Feldman 2007). Un estudio reciente sobre el efecto de la dieta en los signos clínicos de la IPE, en el cual se prueban tres tipos de dietas diferentes (alto en grasa, alto en fibra y altamente digestible) en caninos enfermos, concluye que existieron diferentes respuestas a los distintos tipos de dieta estudiados, lo que sugiere que el tipo de dieta debe ser formulado de forma personalizada para cada paciente debido a que el efecto de las dietas en el estudio sobre el bienestar de los caninos era impredecible (Westermarck & Wiberg, 2006).

Parte de la actividad enzimática se pierde debido al pH ácido del estómago, especialmente la lipasa. La inhibición de la secreción de ácido gástrico con antagonistas de los receptores histamínicos-2 (H<sub>2</sub>), ha demostrado algunos efectos positivos (Xenoulis, 2020).

Los perros y gatos con IPE pueden tener concentraciones por debajo del límite normal de cobalamina (vitamina B12) y tocoferol (vitamina E) en suero (Hall & col., 2012). Esta deficiencia se debe en parte a un aumento de la captación de cobalamina por las bacterias intestinales y en parte a la falta del factor intrínseco pancreático, que se ha demostrado que tiene una función principal en la absorción de cobalamina. No se han documentado signos clínicos específicos de estas deficiencias, pero en otras especies se han descrito cambios en la mucosa intestinal, miopatía, mielopatía y otras anomalías del tejido nervioso (Hall & col., 2012).

La dosis de cobalamina que se recomiendan es de 100 a 500 ug por vía parenteral. Por otro lado, el tocoferol se puede suplementar, vía oral con dosis de 5 a 25 UI/kg una vez al día durante un mes (Rodríguez, 2018).

Los antimicrobianos son los fármacos que se han utilizado como adyuvantes en el tratamiento de la IPE. Es común que los perros con IPE presenten sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado antes y durante el tratamiento de suplementación

enzimática. El sobrecrecimiento bacteriano se ve influenciado por varios factores como son el aumento de la cantidad de sustrato en la luz intestinal, la falta de factor antibacteriano y los cambios de motilidad intestinal y las funciones inmunitarias (Ettinger & Feldman 2007). Se recomienda el uso de metronidazol, tilosina y tetraciclinas. En general se indican por un periodo de tiempo de tres semanas (Rodriguez, 2018).

También se ha demostrado la malabsorción de la vitamina A en asociación con IPE, así como la coagulopatía con respuesta a vitamina K. Si existen evidencias clínicas o de laboratorio de coagulopatía se indica su administración a una dosis de 5 a 20 ug cada 12 horas por vía parenteral (Hall, Simpson & Williams, 2012).

Los perros asintomáticos con AAP e IPE subclínica no necesitan tratamiento. Se ha considerado el tratamiento inmunosupresor precoz para detener la evolución de la destrucción autoinmunitaria de los tejidos con el objetivo de evitar la enfermedad clínica pero el seguimiento a largo plazo de estos caninos ha demostrado que el tratamiento para retrasar la atrofia es cuestionable (Ettinger & Feldman 2007). Se realizó un estudio sobre la progresión de la pancreatitis linfocítica atrófica autoinmune desde la fase subclínica a clínica para determinar si era posible evitar la progresión de la enfermedad con un tratamiento inmunosupresor. Utilizaron azatriopina durante 9 a 18 meses en caninos con IPE subclínica. Se concluyó que el tratamiento no fue capaz de prevenir la progresión del proceso autoinmune y que tampoco fue útil realizar mediciones repetidas para predecir la progresión de la enfermedad (Wiberg & Westermarck, 2002).

La respuesta al tratamiento con suplementación enzimática se evidencia clínicamente en las primeras semanas de tratamiento, de modo que hay ganancia de peso, disminuye la polifagia, el volumen fecal y cesa la diarrea. Algunos pacientes pueden presentar recaídas cortas de los signos clínicos (Ettinger & Feldman 2007).

La evaluación de la respuesta al tratamiento en animales con IPE se debe realizar mediante la evolución clínica y la ganancia de peso, cuando la respuesta al tratamiento con la suplementación enzimática no es la esperada se debe pensar en algún tipo de error y por ende reevaluar el paciente. Teniendo en cuenta, que no existan errores en el diagnóstico, que la dosificación y administración de la suplementación sea la correcta, que haya un control del sobrecrecimiento bacteriano, controlar la posible hipersecreción gástrica y posibles patologías concurrentes (Rodriguez, 2018).

Se ha demostrado que la respuesta al tratamiento es variable y cerca del 20% de los perros con IPE tienen una respuesta inadecuada (Ettinger & Feldman, 2007).

Se practica la eutanasia al 20% de los perros con IPE durante el primer año después del diagnóstico debido a una respuesta escasa al tratamiento. Otro motivo frecuente es el rechazo por parte del propietario debido a los altos costos y duración del tratamiento (Ettinger & Feldman, 2007).

En el estudio observacional de cohorte realizado en 299 perros, mencionado anteriormente, registraron al final del estudio, que el 40% de los perros que participaron habían fallecido, el 79% de ellos fueron eutanasiados. De los perros eutanasiados el 20% fue por el costo del tratamiento, el 31% fue por mala respuesta al tratamiento, y un 49% debido a otras causas, no asociadas directamente a su IPE. La cantidad de eutanasias debido a los altos costos del tratamiento fue

significativamente mayor que aquellas realizadas en perros con mala respuesta al tratamiento u otras causas (Soetart et al., 2018).

## **2. HIPÓTESIS**

Caninos con signos clínicos compatibles con IPE tendrán concentraciones séricas de TLI inferiores al rango de referencia utilizado en la bibliografía internacional (2.5 ng/mL)

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Utilizar la prueba de la TLI como una herramienta en el diagnóstico definitivo en caninos atendidos en la Policlínica de Gastroenterología del Centro Hospital Veterinario en la Facultad de Veterinaria, UdelaR que concurren con sintomatología sugestiva de IPE.

### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudiar si existe relación entre el diagnóstico clínico de IPE en caninos y la concentración de TLI medida en suero por Quimioluminiscencia en pacientes atendidos en el Centro Hospital Veterinario en el periodo comprendido entre 2018 y 2022.
- Comparar los diferentes métodos diagnósticos disponibles en el Centro Hospital Veterinario en un mismo paciente y como cada uno de ellos se asocian a los signos clínicos presentes en los pacientes con IPE.
- Fundamentar la importancia del diagnóstico confirmatorio para realizar el tratamiento adecuado que requiera el paciente.



## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Criterios de selección de los individuos del grupo de enfermos

Los individuos enfermos (n=26) fueron caninos que consultaron en la Policlínica de Gastroenterología en el Hospital de Facultad de Veterinaria en el periodo 2018-2022 presentando signos clínicos gastrointestinales sugerentes de IPE. A dichos pacientes se les realizó un análisis coprofuncional, luego de un ayuno de 16 horas de alimentos sólidos y con agua a disposición, sin suspensión de la suplementación enzimática, en el cual se confirmó al menos una deficiencia enzimática.

### 4.2. Criterios de selección de los individuos del grupo control

El grupo control fue conformado por 2 subgrupos de caninos clínicamente sanos: el subgrupo 1 conformado por 10 caninos sanos clínicamente mediante examen físico y el subgrupo 2 conformado por 10 caninos sanos clínicamente y sin alteración en sus parámetros hematológicos y bioquímicos (hemograma, funcional hepático, hormonas y urianálisis). En ambos subgrupos los animales tenían entre 1 y 10 años de edad, sin predilección sexual y sin distinción de raza.

### 4.3. Toma de muestras

#### Elección del Tubo

Tubo seco/sin anticoagulantes.

#### Elección del material de punción

El diámetro de la aguja será 21G conectada a una jeringa de 5 ml acorde al tamaño del paciente y del diámetro del vaso sanguíneo.

#### Punción venosa

La vena de elección para la punción venosa fue la vena cefálica. Previo a la venopunción se realizó la tricotomía y antisepsia con alcohol etílico al 70%. Se realizó la compresión con una ligadura por encima del codo. La cantidad de sangre necesaria para realizar la prueba fue de 3 ml. Al transferir la sangre al tubo se extrajo previamente la aguja de la jeringa, luego se introduce la punta de la jeringa sobre la pared interna del tubo, y mediante una ligera presión sobre el émbolo, se dejó caer la sangre a lo largo de la superficie del tubo.

#### Transporte de las muestras

Las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Análisis Clínicos de Facultad de Veterinaria, refrigeradas a 4°C en una conservadora. Cada tubo estaba identificado con el nombre del paciente y su número de identificación.

#### Ingreso al laboratorio

Luego de ingresadas las muestras al laboratorio se corroboró que estuvieran en condiciones para su posterior centrifugación 1500 rpm durante 10 minutos en la centrífuga “Humax 3k”. Se extrajo el suero y se acopio en tubos eppendorf para su congelación a -20°C y posterior procesamiento.

#### 4.4. Procesamiento de las muestras

En todas las muestras obtenidas se determinó la concentración de tripsina sérica. Para ello se utilizó un kit específico de especie (IMMULITE Canine TLI), del laboratorio Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd, Reino Unido, nº de referencia LK11 y lote 0464. Se procesaron la totalidad de las muestras en el equipo IMMULITE 1000 (Siemens) en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, UdelaR. Previo a procesar las muestras se realizó el ajuste del equipo para la utilización del kit IMMULITE Canine TLI y se utilizaron los controles propios del kit garantizando el correcto funcionamiento del mismo (Tabla 4).

**Tabla 4.** Rangos de referencia para el control del kit

Nivel	Media	SD	2SD Rango
<b>LLIC 10035 (Control 1)</b>	2,8	0,25	2,3-3,3
<b>LLIC 20035 (Control 2)</b>	19,8	1,76	16,1-23,1

Los valores de referencia utilizados se expresan en SD: Desvío Estándar; 2SD: 2 Desvíos Estándar.

En nuestro ensayo los valores de controles obtenidos fueron para el control 1 2,7ng/ml y 20,7ng/ml para el control 2.

Una vez realizado el ajuste y determinada la concentración de los controles se procedió a descongelar a temperatura ambiente las muestras de suero sanguíneo, y se procesaron siguiendo las instrucciones del fabricante bajo la supervisión técnica del personal del laboratorio.

## 5. RESULTADOS

En base a la bibliografía consultada se establecen 4 rangos de valores posibles de TLI canina en suero. Un resultado menor a 2,5 ng/ml es compatible con IPE. El rango entre 2,5 - 5 ng/ml, denominado zona gris, se asocia a una IPE parcial o a un ayuno incorrecto. El rango de normalidad es entre 5 a 45,2 ng/ml y por último valores mayores a 45,2 ng/ml pueden corresponder a una pancreatitis (Texas A&M University School of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences, 2023).

Las concentraciones de TLI en caninos del grupo control estuvieron desde 14 ng/ml hasta concentraciones mayores de 50 ng/ml. Estos resultados se aprecian en las tablas nro. 5 y nro. 6 respectivamente en la sección de Anexos.

Con respecto al grupo control, en el subgrupo 1 de animales sanos representado por un total de 10 animales, 5 pacientes que se encontraron dentro del rango de referencia correspondiente a animales sanos, los otros 5 animales presentaron valores que se ubican dentro del rango de referencia para pacientes que cursan o cursaron pancreatitis. Cabe aclarar que estos animales se consideraron sanos solamente por una revisión física y no contamos con ningún dato relativo de análisis paraclínicos.

El subgrupo 2 conformado por 10 caninos sanos clínicamente y a los cuales se les realizaron análisis de laboratorio (hemograma, funcional hepático, perfil renal, hormonas y urianálisis) no presentando ninguna alteración en sus valores. Cinco de los 10 animales se encuentran en el rango de referencia correspondiente a animales sanos, y los otros 5 presentaron valores mayores de 45,2 ng/ml compatible con pancreatitis.

Los resultados del grupo de enfermos se aprecian en la tabla 7 en la sección de Anexos.

De los 26 pacientes diagnosticados previamente como enfermos (Tabla 7), mediante sintomatología clínica sugerente de IPE y con al menos una deficiencia enzimática en el coprofuncional, solo 6 animales presentaron concentraciones de TLI menores a 2,5 ng/ml. Estos animales presentaron también GPT/ALT (alaninoaminotransferasa) aumentada, colesterol disminuido y aumentos de FAS (fosfatasa alcalina sérica).

En los 20 caninos restantes se obtuvieron resultados de TLI que no son concordantes con la presentación clínica, ni con el resultado del coprofuncional de cada caso al momento de la consulta inicial, por lo cual fue un hallazgo no esperado en este estudio. Con respecto al sexo 22 de 26 (85%) de los caninos seleccionados fueron machos y 4 fueron hembras (15%).

De los 6 (23%) pacientes con una concentración sérica de TLI menor a 2,5 ng/ml, 6 de machos y 2 hembras.

Con respecto a la edad de diagnóstico 4/6 caninos fueron diagnosticados antes de los 5 años de edad. El 66.7% de los caninos de este grupo pertenecen a razas descritas como predispuestas en la bibliografía internacional (Ovejero Aleman, Collie y Pastor Belga).

En este grupo (6) todos los caninos presentaron una gran deficiencia de amilasa, que se evidenció por la abundante presencia de carbohidratos en sus respectivos

coprofuncionales. También se evidenció una gran deficiencia de lipasa, excepto en un canino que presentó leve deficiencia de esta enzima. Solo 1 canino de 6 presentó leve deficiencia de proteasa.

El 100% de este grupo suplementaba su dieta con enzimas pancreáticas, bajo la forma de pancreatina, registrado como Creon®.

Del total de 26 caninos muestreados, 8 caninos (31%) se encontraron dentro del rango de normalidad de TLI (5 - 45,2 ng/ml), y con respecto al sexo 7 de 8 caninos eran machos y 1 canino hembra.

Analizando los pacientes de este grupo (8), solo 1 de 8 presentó el valor de GPT/ALT (18-97 UI/l) por encima del rango de referencia, la FAS (17-111 UI/l) sufrió fluctuaciones no significativas. Con respecto al valor del colesterol se presentó en 4 de 8 caninos hipocolesterolemia, 2 de 8 caninos hipercolesterolemia y los 2 restantes presentaron el colesterol dentro del rango.

Con respecto al coprofuncional, 3 de 8 caninos presentan únicamente deficiencia de lipasa y 3 de 8 presentan únicamente deficiencia de amilasa. Uno de 8 caninos presentó deficiencia de lipasa y amilasa en forma conjunta, y por último solo 1 canino del grupo presentó una leve deficiencia de proteasa y de amilasa respectivamente.

Por otra parte, 12 de los 26 (46 %) del total de pacientes muestreados se encuentran dentro del rango mayor a 45,2 ng/ml que se corresponde con una pancreatitis. Con respecto al sexo 11 de 12 fueron machos y 1 hembra. Todos los caninos de este grupo obtuvieron resultados de GPT/ALT dentro del rango de referencia, 3 de 12 presentaron hipercolesterolemia, y 9 de 12 se encontraron dentro del rango de referencia.

En cuanto a los resultados obtenidos mediante el coprofuncional, se determinó que 4 de 12 presentaban deficiencia únicamente de amilasa, por otra parte, solo 1 de 12 presentó deficiencia de lipasa, y 1 de 12 presentó deficiencia de las 3 enzimas respectivamente. Seis de 12 presentaron al menos dos enzimas deficientes, mientras que todos presentaron deficiencia de amilasa combinado con lipasa o proteasa.

En relación a los valores mayores a 50 ng/ml fueron detectados en 8 de 12 caninos de este grupo.

Por otra parte, 5 de 12 caninos reciben como tratamiento de la IPE reemplazo de las enzimas pancreáticas por extractos enzimáticos orales.

## 6. DISCUSIÓN

La insuficiencia pancreática exocrina (IPE) debe incluirse en el diagnóstico diferencial de todos los perros con uno o varios signos compatibles de esta enfermedad, especialmente en caso de diarrea de intestino delgado y pérdida de peso. El diagnóstico funcional se basa en detectar una disminución de la capacidad secretora pancreática a través de pruebas de función pancreática, fundamentalmente a través de la medición de la inmunorreactividad similar a la tripsina (TLI) sérica. En el caso de querer identificar la etiología subyacente es necesario realizar una biopsia pancreática.

Del estudio realizado surge que de un total de 26 pacientes muestreados con diagnóstico presuntivo de IPE mediante la anamnesis, la sintomatología clínica, el coprofuncional y funcional hepático; solo 6 animales se encontraron por debajo del rango de referencia, con una TLI menor a 2,5 ng/ml, por lo tanto, este resultado estuvo en concordancia con el diagnóstico realizado a través de los otros paraclínicos antes mencionados solo en el 23% de los casos.

En este grupo de animales (6) en relación con los resultados obtenidos a través del coprofuncional, los animales muestreados pertenecen 4 a razas como Pastor Alemán, Collie y sus cruza respectivamente, donde es posible que la enfermedad se herede como un carácter autosómico recesivo (Batchelor, 2007; Tams, 2005), y además sus edades estaban comprendidas entre 1 y 5 años, estos dos datos evidencian que es muy factible que en estos animales la causa de la IPE fuese una atrofia acinar pancreática (AAP) no inflamatoria que afecta a perros jóvenes. Por otra parte, este grupo también estaba integrado por un animal de raza Pinscher y otro mestizo, diagnosticados a una edad de 7 y 14 años respectivamente, lo cual explicaría la aparición de la IPE en animales que no pertenecen a las razas genéticamente susceptibles y además en un rango etario donde ya son adultos, lo que determinaría que la IPE sería consecuencia de una pancreatitis crónica que consiste en una destrucción inflamatoria progresiva lenta del páncreas, llevándolo a una fibrosis con la destrucción tanto del páncreas exocrino como del endocrino (Anderson, 1999; Birchard, 2002; Nelson & Couto, 2005).

Por otro lado, este grupo también presentó movilización de las enzimas hepáticas (ALT y FAS), esto refleja la lesión de los hepatocitos secundaria al aumento de la captación de sustancias hepatotóxicas a través de la mucosa, debido al sobrecrecimiento bacteriano en especial de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas con predominio de *E. coli* y enterococos, que se encuentran presentes en la flora bacteriana normal, pero en perros con IPE hay un incremento de estas en el intestino delgado. Estos cambios en la microflora intestinal en la IPE pueden ser secundarios a la pérdida de producción del factor antibacteriano el cual posee propiedades antibacterianas, o por otra parte aún a definir, sea consecuencia de anomalías en la inmunidad o motilidad intestinal u otras secreciones digestivas (Tams, 2005; Westermarck & Wiberg, 2012).

En concordancia con la bibliografía también se encontró niveles de colesterol por debajo del rango de referencia (150-275 mg/dl) en todos los animales de este grupo.

Con respecto al coprofuncional se evidenció deficiencia de 2 o más enzimas pancreáticas en todos los pacientes (6) de este grupo y presentaron como principal

deficiencia enzimática la disminución en la producción de amilasa, siendo esta en un grado 3 severo (rango de 1 a 3) en conjunto con una deficiencia en la producción de lipasa también en grado 3, en 5 de 6 pacientes, y 1 de 6 presentaba un grado leve de lipasa y proteasa en conjunto con un grado 3 de deficiencia de amilasa.

Según el registro obtenido, la totalidad de este grupo (6) suplementa su dieta con enzimas pancreáticas de forma permanente, lo que evidencia la necesidad del tratamiento específico para una correcta digestión.

No obtuvimos ningún resultado de cTLI en el rango de 2,5 a 5 ng/ml, denominado zona gris, en la cual un perro en este rango puede ser normal o presentar una IPE parcial, también puede verse afectado por un ayuno incorrecto por lo que debería repetir el análisis (Tams, 2005). Esto nos asegura que los caninos muestreados realizaron el ayuno correspondiente.

Del total de animales enfermos muestreados (26) 8 animales se encontraron dentro del rango de referencia considerado normal para la cTLI (5 a 45,2 ng/ml), lo que se corresponde a animales sin IPE.

En este grupo de animales hay consideraciones particulares que podrían explicar por qué habiendo sido diagnosticados con IPE en el momento de realizar el screening mediante la anamnesis, sintomatología clínica, coprofuncional y el funcional hepático, al momento de realizar la corrida de la TLI el resultado no está en acuerdo con una insuficiencia pancreática. Uno de los argumentos posibles para estos animales e incluso para el grupo donde los pacientes presentaron valores superiores al rango de normalidad (mayor a 45,2 ng/ml) lo que indicaría que este grupo estaba cursando una pancreatitis al momento de realizar la técnica, es que en muchos de estos casos existe un defasaje entre el tiempo de la realización de los análisis paraclínicos mencionados anteriormente y el momento de la extracción de sangre para corrida de la TLI. Por lo tanto, no coinciden en el tiempo real, lo que podría explicar, la variabilidad de resultados comparados con el primer diagnóstico. Esto se explica debido a la pandemia ocurrida en el periodo 2020-2022 lo que determinó un acceso limitado a la información de cada paciente y a la toma de muestras tanto en el hospital como a domicilio. Por lo que se seleccionaron pacientes que ya contaban con análisis sanguíneos y coprofuncional previos a la pandemia. Por otro lado, la bibliografía menciona que una TLI alta en pacientes con disfunción pancreática puede ser el resultado de una enfermedad inflamatoria aguda en el tejido residual (Wiberg & Westermarck, 2002).

Cabe resaltar que los animales diagnosticados en su momento mediante la anamnesis, sintomatología clínica, una condición corporal deteriorada, más un coprofuncional con características de IPE y funcional hepático con movilización enzimática, recibieron el tratamiento correspondiente al diagnóstico de IPE y respondieron en excelente forma.

De los animales incluidos en este grupo con un valor de TLI (5 a 45,2 ng/ml), se desprenden varias explicaciones:

Seis del total de 8 animales estaban comprendidos en un rango de edad entre 11 meses y 4 años, rango en el que se manifiesta la atrofia acinar pancreática (Clark & Cox, 2012; Hall 2009; Tams, 2005). Se manifiesta entre 6 meses y 6 años de edad, y

no hay predisposición sexual, puede afectar a cualquier raza y mestizos, y en este grupo todos los ejemplares eran machos, pese a que no existe predisposición sexual descrita en esta enfermedad. Solo un perro cruzado fue mayor de 7 años al momento del diagnóstico.

Con respecto a los coprofuncionales de este grupo (8), 3 caninos presentaron alteraciones leves (grado 1) en la digestión de lipasa únicamente, 3 de 8 animales presentaron una deficiencia leve en la digestión de los carbohidratos, uno de ellos con una leve deficiencia en la digestión de proteasa también. Uno de 8 presentó una deficiencia leve en la digestión de carbohidratos en conjunto con una deficiencia leve de proteínas. Como mencionamos anteriormente en la revisión bibliográfica, una concentración de TLI normal (mayor a 5 ng/ml) no excluye una disfunción pancreática leve (Ettinger & Feldman, 2007), donde la TLI sérica puede ser normal a pesar de que el paciente presente IPE. Esto ocurre cuando se debe a una deficiencia aislada de lipasa pancreática, la cual es la enzima limitante de la digestión pancreática. Por lo tanto, los pacientes con una deficiencia aislada de lipasa pueden tener síntomas de IPE pero presentar una concentración sérica de TLI normal (Steiner, 2010; Xenoulis, 2020).

En cuanto a los valores de TLI obtenidos en este grupo estuvieron en un rango entre 20,7 a 36 ng/ml (valores de 5 a 45,2 ng/ml correspondiente a animales normales). Con respecto al funcional hepático la concentración de ALT estuvo dentro del rango de normalidad en todos los caninos muestreados con excepción de un Dachshund de 2 años que se encontró en 132 U/l, una movilización muy leve que puede tener origen en otra parte del aparato digestivo. Por otra parte, de los 8 caninos la FAS estuvo en su valor normal en 2 caninos y por encima del rango en 6 animales con variaciones en los valores entre 149 U/l para el más bajo y 433 U/l para el más alto. En el caso de esta enzima (FAS) es una enzima de membrana presente en muchas células, se encuentra en mayor concentración en la mucosa intestinal, y en menor proporción en la corteza renal, placenta, hígado y hueso (Center, 1997, 2007). Es útil su determinación para la evaluación de patologías hepatobiliares, hiperadrenocorticismos, neoplasias y enfermedades musculoesqueléticas (Willard et al, 2002). En el caso particular de la IPE, las ocasionales elevaciones de la FAS, no acompañados de otros marcadores hepáticos, se asocian a cuadros de sobrecrecimiento bacteriano o disbiosis a causa de la disminución del factor antibacteriano que se produce en la IPE.

El colesterol se mantuvo dentro de su rango normal en 2 de 8 animales muestreados mientras 4 de 8 caninos presentaron hipocolesterolemia desde 52 a 147 mg/dl (rango de referencia 150 a 275 mg/dl), 2 de 8 pacientes, específicamente uno de ellos de raza Bóxer, de 2 años de edad presentó un colesterol de 356 mg/dl. Esta elevación en el colesterol puede tener su explicación en la raza de este animal, que se encuentra dentro de las razas caninas reportadas como de mayor riesgo de hipotiroidismo. Así como también la edad de presentación dado que generalmente se manifiesta en perros mayores a un año (Dixon, Reid & Mooney, 1999).

El paciente labrador hembra de 6 años presentó un coprofuncional donde la única deficiencia que presentaba fue en la digestión de carbohidratos y de carácter leve (grado 1), enzimas hepáticas ALT normal y FAS levemente aumentada de manera inespecífica, mientras que un colesterol bajo 52 mg/dl (150-275 mg/dl) y una TLI de 20,8 ng/ml. La hipocolesterolemia en este paciente pudo ser consecuencia de un pH

ácido intraduodenal que conlleve a la precipitación de las sales biliares y por lo tanto, la deficiencia en las mismas impide una adecuada formación micelar de las grasas, e interferencia con la absorción de grasa. Pero también debe tenerse en cuenta la posibilidad de otras alteraciones que llevan a un nivel bajo de colesterol, que pueden indicar una patología del intestino delgado, una IPE o una patología hepática, y en ausencia de otros elementos que muestren un problema de síntesis hepática (Villiers & Blackwood, 2015). Esta recibió como tratamiento reposición de enzimas pancreáticas respondiendo favorablemente.

Del total de 26 caninos muestreados, 12 animales presentaron un valor mayor a 45,2 ng/ml de TLI, este aumento de la TLI se puede correlacionar con un estadio inicial de una pancreatitis ya que cuando hay una lesión o inflamación pancreática la tripsina se libera a la circulación general pero su vida media es muy corta, por lo tanto, tiene poca sensibilidad en el diagnóstico de pancreatitis aguda (Ceron, 2015).

En cuanto a la edad de los animales de este grupo, el mismo estaba integrado por perros adultos 2 de 2 años, 3 de 3 años, 3 de 4 años, 1 de 5 años, 1 de 6 años, 1 de 8 años y 1 de 11 años. Por otro lado, en cuanto al sexo 11 eran machos y solo 1 hembra.

Dado que los animales muestreados en este grupo son todos animales adultos y se determinaron valores superiores a 45,2 ng/ml compatibles con inflamación pancreática, está en concordancia con lo reportado por Williams en 1983, donde reporta que un proceso inflamatorio puede evidenciar una TLI normal o aumentada debido a una mayor liberación de enzimas pancreáticas a la sangre, y que la IPE sea causada por episodios repetidos de pancreatitis crónica, pancreatitis aguda o subaguda, a su vez Watson en 2007 reporta que se desarrolla principalmente en perros viejos de cualquier raza.

La interpretación de la TLI en perros con una IPE debida a una pancreatitis crónica puede ser más complicada si el paciente presenta episodios de reagudización de la pancreatitis con signos digestivos, muchas veces inespecíficos como anorexia, dolor abdominal. La TLI puede aumentar transitoriamente y de forma intermitente hasta o por encima del rango normal en los perros con IPE secundaria a pancreatitis crónica terminal, si se mide durante un episodio de inflamación. Si se producen ambas enfermedades al mismo tiempo pueden interferir en la interpretación de la prueba (Nelson & Couto, 2005).

La TLI puede estar aumentada en pacientes con pancreatitis, aunque es una prueba poco fiable para dicho diagnóstico, ya que solo se mantiene elevada en sangre unas 24-36 horas tras la lesión inicial (Ceron, 2015); por lo tanto, la pancreatitis se debe confirmar con la prueba de PLI la cual tiene mayor sensibilidad y especificidad para esta otra patología (Nelson & Couto, 2005), algo que en este trabajo no realizamos una vez obtenidos estos valores sugestivos de pancreatitis. Para realizar el diagnóstico de IPE se recomienda medir la TLI mínimo una semana después de dichos episodios, una vez que el paciente se ha estabilizado del cuadro agudo de la pancreatitis. Aun así, en perros con pancreatitis crónica y pérdida de peso, no explicable por otros motivos, especialmente, si repetidamente tienen valores de TLI próximos a los límites de normalidad, se recomienda realizar un ensayo terapéutico con enzimas pancreáticas (Nelson & Couto, 2005).



La TLI puede estar aumentada por otros motivos, como ocurre en pacientes con trastornos gastrointestinales, tal y como se ha descrito en personas y en gatos con diversas enfermedades gastrointestinales (Steiner, 2014; Simpson et al., 2001). Algunos autores sugieren que se pueden sintetizar pequeñas cantidades de tripsina en el intestino de perros y gatos y en el ser humano (Steiner, 2014), la tripsina también se encuentra en el intestino delgado, en el epitelio biliar y en algunas neoplasias ováricas y hepatobiliares (Stockham & Scott, 2008).

Dentro de este grupo, un paciente cruzado macho de 8 años con un resultado de coprofuncional con deficiencia leve (grado 1) en la digestión de proteínas y una deficiencia grave en la digestión de carbohidratos, presentó un valor elevado de fosfatasa alcalina 16.727 U/l, posiblemente estuviera asociado a una endocrinopatía con curso concomitante como ser hiperadrenocorticismos.

Por otra parte, en este grupo también se evidenció un paciente Bulldog francés macho de 5 años, con un colesterol elevado 282 mg/dl, sin otros datos relevantes que hicieran pensar en otra patología concomitante, un coprofuncional con alteraciones digestivas leves (1) con respecto a la digestión de lípidos, proteínas y carbohidratos respectivamente, posiblemente la explicación de esta alteración lipídica fuera consecuencia de su alimentación la cual era en base a una ración de bajo costo con elevado porcentaje de grasa y proteína de baja calidad. El resultado de TLI puede ser un falso negativo frente a una desnutrición proteica extrema, esto se debe a que hay una respuesta adaptativa de la síntesis de enzimas pancreáticas frente a una dieta pobre en proteínas (Dossin, 2011).

La fosfatasa alcalina aumentada en 2 perros (320 U/l y 420 U/l) podría estar asociado a una hipermultiplicación bacteriana debido a la ausencia de secreciones pancreáticas que poseen propiedades antibacterianas y puede explicar muchos de los cambios en la mucosa intestinal. Dependiendo de las especies bacterianas en exceso, puede haber alteraciones en la actividad enzimática del ribete en cepillo, grados de atrofia vellosa y competencia por los nutrientes ingeridos (Nelson & Couto, 2005; Tams, 2005), resultando en desconjugación de sales biliares e hidroxilación de ácidos grasos lo que puede conllevar a enteritis (Hall, 2009).

Como mencionamos anteriormente, la TLI presenta una alta sensibilidad, pero pueden darse falsos negativos, en este estudio no se analizaron otros marcadores de la función pancreática para determinar si los pacientes estaban cursando una pancreatitis en el momento del diagnóstico y/o en el momento de la toma de muestra de suero para la TLI o si presentaban una pancreatitis crónica recidivante. Cabe establecer que este proyecto hubiese sido de mayor relevancia si se hubiesen recolectado otros marcadores (folato, cobalamina, elastasa) para analizar cada caso individual. Tampoco estábamos en conocimiento si los pacientes muestreados habían recibido corticoides u otras medicaciones detalladas anteriormente en los 7 días previos a la extracción de sangre que pudieran afectar la medición de TLI (Nelson & Couto, 2010; Rodon, 2017). Todos estos factores que no fueron contemplados en este estudio pueden ocasionar un aumento de la TLI pese a que exista una IPE.

Una única TLI normal o alta en un perro de edad avanzada que no es Pastor alemán, con signos clínicos sospechosos, no excluye IPE. De forma alternativa, en estos animales se puede realizar una prueba para valorar la actividad enzimática en el intestino, como la de la elastasa fecal (Nelson & Couto, 2010).

Las muestras de suero para la medición de cTLI fueron tomadas de manera correcta y el procesamiento de las mismas fue tutelado bajo profesionales idóneos en la materia. Se descartaron factores ajenos al paciente que hayan podido alterar la muestra. Se controló y revisó el manejo en toda la cadena del procesamiento de las muestras, desde su correcta toma, el tiempo y temperatura de almacenamiento y finalmente el análisis. Como se mencionó anteriormente la muestra de suero es estable en las siguientes condiciones: refrigerada (2-8°C) hasta por 2 semanas y congelada (-20°C) hasta por varios años (Vaden et al., 2011). Fueron analizados en un estudio sueros de perros control congelados hasta por 5 años y se vio que el valor de la TLI 5 años después fue igual al medido en la muestra recién preparada (Williams, 1983). Así mismo se descartaron errores aleatorios en el procesamiento de las muestras incluso se repitieron las determinaciones para asegurar el correcto funcionamiento del equipo Immulite 1000.

## 7. CONCLUSIONES

En el presente trabajo de tesis, se utilizó la prueba de TLI en caninos con sintomatología sugestiva de IPE con el objetivo de demostrar la utilidad de la misma para confirmar el diagnóstico de IPE, ya que es la prueba gold standard acorde a la bibliografía consultada en caninos.

Si bien, los datos obtenidos en este trabajo evidenciaron que muchos caninos compartían una sospecha clínica, algunos diagnósticos fueron confirmatorios mediante el uso de la prueba de cTLI pero en la mayoría de los caninos los resultados no fueron los esperados.

La determinación sérica de TLI en forma aislada o como único test diagnóstico en un paciente con sospecha clínica de IPE, puede no ser concluyente. Esta prueba debe ser utilizada en conjunto con otros análisis paraclínicos y un coprofuncional con el fin de confirmar o descartar la presencia de una IPE, para establecer un tratamiento y pronóstico individualizado.

Además, se evidenció cómo pueden existir varios factores como patologías concomitantes, procesos inflamatorios del páncreas y administración de ciertas drogas que influyen en el resultado de la TLI canina, por lo que no es eficiente en el diagnóstico de IPE aplicada como única prueba.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, N.V. (1999). *Gastroenterología veterinaria* (2ª ed). Buenos Aires: Intermédica.
- Batchelor, D. J., Noble, P. J., Cripps, P. J., Taylor, R. H., McLean, L., Leibl, M. A., & German, A. J. (2007). Breed associations for canine exocrine pancreatic insufficiency. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(2), 207-214. doi:10.1111/j.1939-1676.2007.tb02950.x
- Birchard, S., & Sherding, R. (2002). *Manual clínico de pequeñas especies*. Barcelona: McGraw Hill-interamericana.
- Budras, K., & McCarthy, P. (2007). *Anatomy of the dog* (5ª ed.). Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH.
- Center, S. A. (1997). Fisiopatología, diagnóstico clinicopatológico y enfermedades del hígado. En S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Tratado de medicina interna veterinaria* (4ª ed., Vol. 2, pp. 1540-1543). Buenos Aires: Intermédica.
- Center, S. A. (2007). Interpretación de las enzimas hepáticas. *Clínicas Veterinarias de Norte America: Medicina de Pequeños Animales*, 37(2), 297-333.
- Clark, L. A., & Cox, M. L. (2012). Current Status of Genetic Studies of Exocrine Pancreatic Insufficiency in Dogs. *Topics in Companion Animal Medicine*, 27(3), 109-112. doi:10.1053/j.tcam.2012.04.001
- Cordner, A. P., Armstrong, P. J., Newman, S. J., Novo, R., Sharkey, L. C., & Jessen, C. (2010). Effect of Pancreatic Tissue Sampling on Serum Pancreatic Enzyme Levels in Clinically Healthy Dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(5), 702-707. doi:10.1177/104063871002200505
- Dixon, R.M., Reid, S.W., & Mooney, C.T. (1999). Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *The Veterinary Record*, 145, 481-487.
- Dossin, O. (2011). Laboratory Tests for Diagnosis of Gastrointestinal and Pancreatic Diseases. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(2), 86-97. doi:10.1053/j.tcam.2011.02.005
- Ettinger, S.J., & Feldman, E.C. (2007) *Tratado de medicina interna veterinaria: enfermedades del perro y el gato* (6ª ed., 2 Vol.). Madrid:Elsevier.
- Hall, E.J., Simpson, J.W., & Williams, D.A. (2012). *Manual de gastroenterología en pequeños animales* (2ª ed.) Barcelona: Ediciones S.
- Getty, R. (1982). *Sisson y Grossman anatomía de los animales domésticos* (5ª ed.). Barcelona: Salvat.
- Hamilton, K., O'Kell, A. L., & Gilor, C. (2021). Serum trypsin- like immunoreactivity in dogs with diabetes mellitus. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(4), 1713-1719. doi:10.1111/jvim.16208

- Herdt, T.H. (2020). Secreciones del tracto gastrointestinal. En B.G Klein, *Cunningham Fisiología Veterinaria* (6ª ed., pp.307-315). Barcelona: Elsevier.
- Hulsebosch, S. E., Palm, C. A., Segev, G., Cowgill, L. D., Kass, P. H., & Marks, S. L. (2015). Evaluation of Canine Pancreas-Specific Lipase Activity, Lipase Activity, and Trypsin-Like Immunoreactivity in an Experimental Model of Acute Kidney Injury in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), 192-199. doi:10.1111/jvim.13806
- Kaneko, J.J., Hrvey, J.W., & Bruss, M.L (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (5ª ed.). San Diego: Academic Press.
- Kennedy, O. C., & Williams, D. A. (2012). Exocrine Pancreatic Insufficiency in Dogs and Cats: Online Support for Veterinarians and Owners. *Topics in Companion Animal Medicine*, 27(3), 117-122. doi:10.1053/j.tcam.2012.05.001
- Kim, J., Kang, B., Kim, H., Park, C., Park, E., Park, H. (2005). Canine exocrine pancreatic insufficiency treated with porcine pancreatic extract. *Journal of Veterinary Science*, 6(3), 263-266.
- Kumar Sing, A., Ilyas, W., Thakur, N., Singh, A. (2018). Exocrine pancreatic insufficiency in canines: An update, *Journal of entomology and zoology studies*, 6(5), 854-858.
- Latimer, K.S., Mahaffey, E.A., & Prasse, K.W. (2005). Sistema digestivo. En K.S. Latimer (Ed.), *Patología Clínica Veterinaria* (4ª ed., pp.269-277). Barcelona: Multiméica.
- Liebich, H.G., & Konig H. E. (2015). Esqueleto axial (Skeleton axiale). En H. E Konig & H.G Liebich, *Anatomía de los animales domésticos* (2ª ed., pp.29-98). Madrid: Médica panamericana.
- Mansfield, C. (2015). Practical Interpretation and Application of Exocrine Pancreatic Testing in Small Animals. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(3), 535-554. doi:10.1016/j.cll.2015.05.004
- Meyer, D.J., & Hervey, J.W. (2007). Evaluación de las alteraciones del páncreas exocrino e intestino. En D.J. Meyer, y J. W. Hervey (Ed.), *Medicina laboratorial veterinaria* (3ª ed., pp. 283-288). Barcelona: Multiméica.
- Nelson, R., & Couto, G. (2005). *Medicina interna de animales pequeños* (3ª ed.). Buenos Aires: Interméica.
- Nelson, R.W., & Couto, C.G. (2010). El páncreas exócrino. En R.W. Nelson, y C.G. Couto, *Medicina interna de pequeños animales* (43ª ed., pp.411-421). Barcelona: Elsevier.
- Pastor J., & Ceron, J.J. (2015). Páncreas exocrino y tracto gastrointestinal. En J.J. Ceron (Ed.), *Análisis clínicos en pequeños animales* (pp.165-175). Buenos Aires: Interméica.
- Pelligra, T., Puccinelli, C., Marchetti, V., & Citi, S. (2022). Ultrasonographic Findings of Exocrine Pancreatic Insufficiency in Dogs. *Veterinary Sciences*, 9, 407.
- Pibot, P., Biourge, V., & Elliott, D. (2008). *Enciclopedia de la nutrición clínica canina*. Madrid: Royal Canin.
- Rodon, J. (2017). *La insuficiencia pancreática como causa de diarreas crónicas*. Recuperado de: <https://www.jordigimeno.com/la-insuficiencia-pancreatica-exocrina-como-causa-de-diarreas-cronicas-ii/>

- Rodríguez, F. (2018). Enfermedades del páncreas exocrino. En F. Rodríguez (Ed.), *Manual de gastroenterología clínica en pequeños animales* (pp.175-178). Zaragoza: Servet.
- Simpson, K. W., Simpson, J. W., Lake, S., Morton, D. B., & Batt, R. M. (1991). Effect of pancreatectomy on plasma activities of amylase, isoamylase, lipase and trypsin-like immunoreactivity in dogs. *Research in Veterinary Science*, 51(1), 78-82. doi:10.1016/0034-5288(91)90035-m
- Simpson, J., Maskell, I., Quigg, J., & Markwell, K. (2008). Long term management of canine exocrine pancreatic insufficiency. *Journal Small Animal Practice*, 35(3), 133-138.
- Soetart, N., Rochel, D., Drut, A., & Jaillardon, L. (2018). Serum cobalamin and folate as prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: An observational cohort study of 299 dogs. *The Veterinary Journal*, 243, 15-20. doi:10.1016/j.tvjl.2018.11.003
- Steiner, J.M. (2010). Páncreas exocrino. En J.M. Steiner, *Gastroenterología en pequeños animales* (pp.275-299). Barcelona: Multimédica.
- Steiner, J.M. (2014). Review of commonly used clinical pathology parameters for general gastrointestinal disease with emphasis on small animals. *Toxicologic Pathology*, 42, 189-194.
- Steiner, J. M., Rutz, G. M., & Williams, D. A. (2006). Serum lipase activities and pancreatic lipase immunoreactivity concentrations in dogs with exocrine pancreatic insufficiency. *American Journal of Veterinary Research*, 67(1), 84-87. doi:10.2460/ajvr.67.1.84
- Stockham, S.L., & Scott, M. A. (2008). Exocrine pancreas and intestine. En S. L. Stockham, M. A. Scott, *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology* (2ª ed., pp. 739-762). Blackwell Publishing.
- Tams, R.T. (1998). *Manual de gastroenterología en animales pequeños* (2ª ed.). Buenos Aires: Intermédica.
- Tams, R.T. (2005). *Manual de gastroenterología en animales pequeños* (2ª ed). Buenos Aires: intermédica.
- Texas A&M University School of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences. (2023). *Serum trypsin-like immunoreactive (TLI)*. Recuperado de <https://vetmed.tamu.edu/gilab/service/assays/tli/?highlight=tli>
- Vaden, S.L., Knoll, J.S., Smith Jr., F. W. K., & Tilley, L.P. (2011). *Pruebas de laboratorio y procedimientos diagnósticos*. Buenos Aires: Intermédica.
- Villiers, E., & Blackwood, L. (2015). *Manual de diagnóstico de laboratorio en pequeños animales*. Barcelona: Ediciones S.
- Watson, P. (2007). How treat exocrine pancreatic insufficiency En *NAVC Proceedings, North American Veterinary Conference*. Orlando: NAVC
- Westermarck, E., & Wiberg, M. E. (2006). Effects of diet on clinical signs of exocrine pancreatic insufficiency in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(2), 225–229. doi:10.2460/javma.228.2.225
- Westermarck, E., & Wiberg, M. (2012). Exocrine Pancreatic Insufficiency in the Dog: Historical Background, Diagnosis and Treatment. *Topics in Companion Animal*

- Wiberg, M. E., & Westermarck, E. (2002). Subclinical exocrine pancreatic insufficiency in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(8), 1183-1187. doi:10.2460/javma.2002.220.1183
- Willard, M.D., & Tvedten, D. C. (2004). Trastornos gastrointestinales, pancreáticos y hepáticos. En D.M Willard. H. Tvedten, y G. Turnwald (Ed.), *Diagnóstico clinicopatológico práctico en los pequeños animales* (4ª ed, pp.223-226). Buenos Aires: Intermédica.
- Willard, M. D., & Twedt, D. C. (2002). Trastornos gastrointestinales, pancreáticos y hepáticos. *Diagnóstico clínico patológico práctico en los pequeños animales* (3ª ed., pp. 202-204). Buenos Aires: Intermédica.
- Williams, D. A. (1992). The pancreas. Exocrine pancreatic insufficiency. En N.V. Anderson (Ed.), *Veterinary gastroenterology* (2ª ed., pp. 283-291). Philadelphia: Lea.
- Williams, D. A. (2009). Enfermedades del páncreas exocrino. En E.J. Hall (Ed.), *Manual de gastroenterología en pequeños animales* (2ª ed., pp. 309-330). Barcelona: Ediciones S.
- Williams, D. A., & Batt, R. M. (1983). Diagnosis of canine exocrine pancreatic insufficiency by the assay of serum trypsin-like immunoreactivity. *Journal of Small Animal Practice*, 24(9), 583-588. doi:10.1111/j.1748-5827.1983.tb00404.x
- Xenoulis, P.G. (2020). Exocrine Pancreatic Insufficiency in Dogs and Cats. *Clinical Small Animal Internal Medicine*, 1(54), 583-590. doi:10.1002/9781119501237.ch54

## 9. ANEXOS

**Tabla 5.** Resultado de TLI en el grupo control-subgrupo 1 (clínicamente sanos)

ID	Sexo	Raza	Edad	TLI (ng/ml)
1	Hembra	Labrador	2 años	14,2
2	Hembra	SRD	11 años	23,8
3	Hembra	SRD	5 años	27,1
4	Hembra	Golden	6 años	27,8
5	Hembra	Golden	10 años	33,1
6	Hembra	Cruza Collie	5 años	> 50
7	Macho	Schnauzer	2 años	> 50
8	Hembra	Labrador	5 años	> 50
9	Hembra	Bulldog frances	7 años	> 50
10	Hembra	Labrador	5 años	> 50

\*SRD: Sin raza definida



**Tabla 6.** Resultado de TLI en el grupo control-subgrupo 2 (clínicamente sanos, sin alteraciones hematológicas ni bioquímicas)

ID	Sexo	Raza	Edad	GOT/AST U/l	GPT/ALT U/l	Colesterol (mg/dl)	FAS (U/l)	TLI (ng/ml)
1	Hembra	Ov Aleman	7 años	24	29	154	45	14
2	Macho	SRD	4 años	45	35	143	73	18,4
3	Hembra	SRD	8 años	29	57	223	59	18,6
4	Macho	Rottwailer	3 años	34	78	230	216	19,3
5	Hembra	SRD	1 año	34	54	142	161	21,7
6	Hembra	SRD	8 años	45	46	213	166	46,3
7	Hembra	SRD	3 años	41	34	179	31	>50
8	Macho	SRD	2 años	31	35	179	548	>50
9	Hembra	Bulldog Frances	3 años	39	40	154	102	>50
10	Macho	SRD	5 años	26	55	181	65	>50

\*Valor de referencia GOT/AST = 18 a 56 UI/l.

\*Valor de referencia GPT/ALT = 20 a 98 UI/l.

\*Valor de referencia FAS = 17 a 111 UI/l.

\*Valor de referencia COLESTEROL = 150 a 275 mg/dl.

(Valores de referencia aportados por el Laboratorio de análisis clínicos de Facultad de Veterinaria, UdelaR).

**Tabla 7.** Resultado de TLI en el grupo de enfermos

ID	Raza	Sexo	Edad	E.D.	GOT (U/l)	GPT (U/l)	COLESTEROL (mg/dl)	COPRO	FAS (U/l)	TLI (ng/ml)	CREON
1	Cruza O. Alemán y Collie	Macho	1 año	1 año	43	122	83	LIP:1 PROT:1 CH:3	74	1	Si
2	Cruza Ovejero Alemán	Hembra	5 años	4 años	40	656	60	LIP:3  PROT:0 CH:3	1053	1	Si
3	Cruza Collie	Macho	1,5 año	1 año	s/d	s/d	s/d	LIP:3 PROT:0 CH:3	s/d	1	Si
4	Pastor Belga	Macho	3 años	2 años	66	391	80	LIP:3 PROT:0 CH:3	479	1	Si
5	Pinscher	Macho	10 años	7 años	31	39	84	LIP: 3 PROT: 0 CH:3	238	1	Si
6	SRD	Hembra	14 años	14 años	39	123	104	LIP: 3 PROT:0 CH:3	605	<b>2,24</b>	Si
7	Labrador	Hembra	6 años	6 años	33	33	52	LIP:0 PROT:0 CH:1	199	<b>20,8</b>	Si
8	SRD	Macho	1 año	1 año	19	35	147	LIP:1 PROT:0 CH:0	107	<b>22,1</b>	No

9	SRD	Macho	2 años	2 años	35	87	147	LIP:1 PROT:0 CH:0	149	24,7	Si
10	Bóxer	Macho	2 años	1 año	32	39	356	LIP:0 PROT:0 CH:3	433	27,2	Si
11	Sharpei	Macho	4 años	2 años	20	29	172	LIP:1 PROT:0 CH:3	253	27,4	s/d
12	Border Collie	Macho	11 meses	7 meses	40	43	294	LIP:0 PROT:0 CH:1	215	34,7	No
13	Daschund	Macho	2 años	2 años	42	132	129	LIP:0 PROT:1 CH:1	83	35,6	s/d
14	SRD	Macho	7 años	6 años	36	73	222	LIP:1 PROT:0 CH:0	209	36	No
15	Weimaraner	Macho	2 años	1,5 año	25	80	229	LIP:0 PROT:1 CH:3	320	45,8	No
16	Bóxer	Macho	2 años	1 año	17	48	338	LIP:0 PROT:0 CH:1	420	47,5	Si
17	Cruza O. Alemán	Macho	11 años	6 años	27	25	212	LIP:0 PROT:0 CH:1	72	48,2	No
18	SRD	Macho	8 años	7 años	31	65	227	LIP:0 PROT:1 CH:3	1672 7	49,1	No
19	Bulldog Francés	Macho	5 años	7 meses	49	25	282	LIP:1 PROT:1 CH:1	123	>50	Si

20	Bóxer	Macho	4 años	2 años	30	52	150	LIP:0 PROT:0 CH:3	147	>50	No
21	SRD	Macho	4 años	2 años	20	23	152	LIP:1 PROT:0 CH:3	114	>50	No
22	Ovejero alemán	Macho	3 años	8 meses	34	33	311	LIP:0 PROT:1 CH:3	123	>50	Si
23	Bulldog Francés	Macho	4 años	5 meses	30	83	114	LIP:1 PROT:0 CH:0	90	>50	Si
24	SRD	Macho	6 años	3 años	38	47	156	LIP:0 PROT:0 CH:3	83	>50	No
25	Boyero de Berna	Macho	3 años	1 año	44	72	203	LIP:0 PROT:1 CH:3	117	>50	Si
26	Bóxer	Hembra	3 años	1 año	46	32	221	LIP:0 PROT:1 CH:3	167	>50	No

\*E.D. Edad al diagnóstico

's/d: Sin datos

\*LIP: Lipasa; PROT: Proteasa, CH: Amilasa. / Grado de deficiencia enzimática presente: 1 = Leve, 2 = Moderado, 3 = Abundante.

**Tabla 8.** Clasificación de resultados obtenidos de TLI en caninos enfermos muestreados según rango de referencia

---

<b>Resultado de TLI (ng/ml)</b>	<b>Cantidad de caninos</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Menor a 2,5	6	23
2,5 – 5	0	0
5 – 45,2	8	31
Mayor a 50	12	46

---