



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS

*Tesis*

**VALORES BIOQUÍMICOS INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO  
HEPÁTICO Y RENAL EN PERROS CLÍNICAMENTE SANOS  
CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO**

*Presenta*

**MVZ ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**

*Para obtener el grado de*

**MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

*Tutor*

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN**

*Comité Tutoral*

**M EN C. SAMUEL LOZANO SANTILLÁN**

**DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ**

**DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES**

Aguascalientes, Ags., Junio del 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS

*Tesis*

**VALORES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DE PERROS  
CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO**

*Presenta*

**MVZ ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**

*Para obtener el grado de*

**MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**EL PRESENTE DOCUMENTO FUE REVISADO, PRESENTADO, DEFENDIDO Y  
APROBADO EN EL SEMINARIO (EXAMEN DE GRADO) CORRESPONDIENTE**

*Tutor*

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN** \_\_\_\_\_

*Comité Tutoral*

**M EN C. SAMUEL LOZANO SANTILLÁN** \_\_\_\_\_

**DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ** \_\_\_\_\_

**DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA** \_\_\_\_\_

Aguascalientes, Ags., Junio del 2017



**AUTORIZACIONES**

**DICTAMEN DE REVISIÓN DEL PROTOCOLO DE TESIS**

DATOS DEL ESTUDIANTE	
NOMBRE: <b>ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE</b>	ID (No. de Registro): 100649
PROGRAMA: MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS	ÁREA: VETERINARIAS
TUTOR/TUTORES: <b>Dr. Teódulo Quezada Tristán</b>	
TESIS ( X )	
OBJETIVO: Obtener los valores de los componentes bioquímicos indicadores del funcionamiento hepático y renal en perros sanos desde un punto de vista clínico atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes clasificados por edad y género; para elaborar una tabla de valores normales comparados con las fuentes de referencia.	
DICTAMEN	
CONGRUENCIAS CON LAS LGAC DEL PROGRAMA: ( X )	
CONGRUENCIA CON LOS CUERPOS ACADÉMICOS: ( X )	
CUMPLE CON LAS NORMAS OPERATIVAS: ( X )	
COINCIDENCIA DEL OBJETIVO CON EL REGISTRO: ( X )	

Aguascalientes, Ags. A \_\_\_\_\_ de Junio de 2017

**FIRMAS**

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN**

**DR. ANTONIO MERAZ JIMÉNEZ**

\_\_\_\_\_  
TUTOR

\_\_\_\_\_  
SECRETARIO TÉCNICO DEL POSGRADO



**DR. RAUL ORTIZ MARTÍNEZ**  
**DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**P R E S E N T E**

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**, quien realizó la tesis titulada VALORES BIOQUÍMICOS INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO Y RENAL EN PERROS CLÍNICAMENTE SANOS CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO , y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 18 de mayo de 2017

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Teódulo Quezada Tristán'.

**DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN**

Integrante del Comité Tutorial de tesis

c.c.p.- Interesada  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Clínica Veterinaria  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Secretario Técnico



**DR. RAUL ORTIZ MARTÍNEZ**  
**DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**P R E S E N T E**

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**, quien realizó la tesis titulada VALORES BIOQUÍMICOS INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO Y RENAL EN PERROS CLÍNICAMENTE SANOS CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"Se Lumen Proferre"  
Aguascalientes, Ags., a 18 de mayo de 2017



**MC. SAMUEL LOZANO SANTILLAN**  
Integrante del Comité Tutorial de tesis

c.c.p.- Interesada  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Clínica Veterinaria  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Secretario Técnico



**DR. RAUL ORTIZ MARTÍNEZ**  
**DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**P R E S E N T E**

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**, quien realizó la tesis titulada VALORES BIOQUÍMICOS INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO Y RENAL EN PERROS CLÍNICAMENTE SANOS CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"Se Lumen Proferre"  
Aguascalientes, Ags., a 18 de mayo de 2017



**DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ**  
Integrante del Comité Tutorial de tesis

c.c.p.- Interesada  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Clínica Veterinaria  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Secretario Técnico



**DR. RAUL ORTIZ MARTÍNEZ**  
**DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**P R E S E N T E**

Por medio del presente, como integrante del Comité Tutorial designado de la egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, **MVZ ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**, quien realizó la tesis titulada VALORES BIOQUÍMICOS INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO Y RENAL EN PERROS CLÍNICAMENTE SANOS CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO , y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, estoy de acuerdo en emitir el presente **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla y continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"Se Lumen Proferre"  
Aguascalientes, Ags., a 18 de mayo de 2017

**DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES**  
Integrante del Comité Tutorial de tesis

c.c.p.- Interesada  
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p.- Jefatura del Departamento de Clínica Veterinaria  
c.c.p.- Consejero Académico  
c.c.p.- Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES  
CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

OF. NO. CCA-D-11-15-111-17

Dra. en Admón. María del Carmen Martínez Serna  
Directora General de Investigación y Posgrado  
**PRESENTE.**

Por medio de la presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "VALORES BIOQUÍMICOS INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO HEPÁTICO Y RENAL EN PERROS CLÍNICAMENTE SANOS CLASIFICADOS POR EDAD Y GÉNERO", de la alumna **ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE**, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
Jesús María, Ags., 25 de Mayo del 2017  
"SE LUMEN PROFERRE"

  
Dr. Raúl Ortiz Martínez  
Decano del Centro

c.c.p. Jefa del Departamento de Control Escolar  
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos  
c.c.p. Secretario Técnico  
c.c.p. Estudiante  
c.c.p. Archivo

## RECONOCIMIENTOS

*Esta tesis de maestría se desarrolló gracias a la participación del Dr. Teódulo Quezada Tristán, quien asesoró este proyecto desde la concepción de la idea, la ejecución, el análisis y hasta la redacción del presente documento; además le quisiera agradecer de manera personal por confiar en mí y por ser una parte importante de mi aprendizaje, por brindarme su apoyo y consejo que a la fecha me ha hecho crecer como persona y profesionalista.*

*Agradezco al comité tutorial conformado por: M. en C. Samuel Lozano Santillán, Dr. Raúl Ortiz Martínez y Dr. Arturo Valdivia Flores por sus aportaciones, correcciones, consejos y conocimiento que compartieron conmigo para mejorar la tesis de maestría.*

*Se reconoce el apoyo financiero del Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología (registro de becario no. 661583), de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (clave PIP/SA 15-3) y del Decano Gabriel Ernesto Pallas Guzmán.*

*También quiero reconocer el esfuerzo de cada uno de mis profesores que fungieron como guías durante mi desarrollo como estudiante de maestría: Dra. Angélica Hernández, Dr. Arturo Valdivia, Dr. José Luis Arredondo, Dra. Carolina de Luna, Dr. Carlos Haubi, Dr. Joaquín Sosa, Dr. Raúl Ortiz y Dra. Leticia Medina Esparza.*

*Agradezco al Mvz. Leonardo Quintero encargado del Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y a su personal por su colaboración y apoyo con sus instalaciones y equipos, así como también a la fundación protectora de animales "Ángeles de Mascotas".*

*También quiero agradecer a mis colegas y amigos: Mvz. esp. Lizbeth Martínez Martínez, Mvz. Jessica Omayra Flores Macías y Mvz. Carlos Leonel Hernández Millán por brindarme su apoyo desinteresado durante la selección de los sujetos de estudio. Además agradezco la labor de las estudiantes Diana Lizzeth Díaz de León y Miriam Gallegos Guerrero quienes apoyaron como instructor beca durante el desarrollo de este proyecto.*

*Agradezco a la Dra. María José Cano Rábano de la Universidad de León, España por aceptarme durante mi estancia, así como también al personal del laboratorio INDILAB.*

*Por último, quiero agradecer a mis compañeros y amigos por alentarme a concluir con este proyecto: Erika Rangel, Estrella, Alejandro Castañón, Brenda Gaytán, Fernando de Luna y a mis compañeros de maestría.*

## DEDICATORIA

*A Dios por permitirme llegar a este momento, guiarme y acompañarme durante todo el trayecto de mi vida.*

*A mi mejor amigo, compañero y amado esposo Juan Manuel Cruz Martínez quien siempre estuvo a mi lado motivándome para alcanzar mis metas, además de apoyarme incondicionalmente, por su paciencia, por escucharme, por darme consejos, por no permitir que me rindiera, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por su consuelo en momentos difíciles, pero principalmente por su amor y cariño incondicional que siempre me ha demostrado.*

*A mis amados padres María Leticia Navarrete Centeno y José Luis Montoya Pérez por enseñarme el respeto, la humildad, honestidad y dedicación para cumplir lo que me propongo, que además sin ellos no sería la persona que soy, por enseñarme a valorar cada momento de mi vida.*

*A mis amados hermanos Alejandra, David, Daniela y Ángel por confiar en mí y por creer en que podía lograr este sueño y más.*

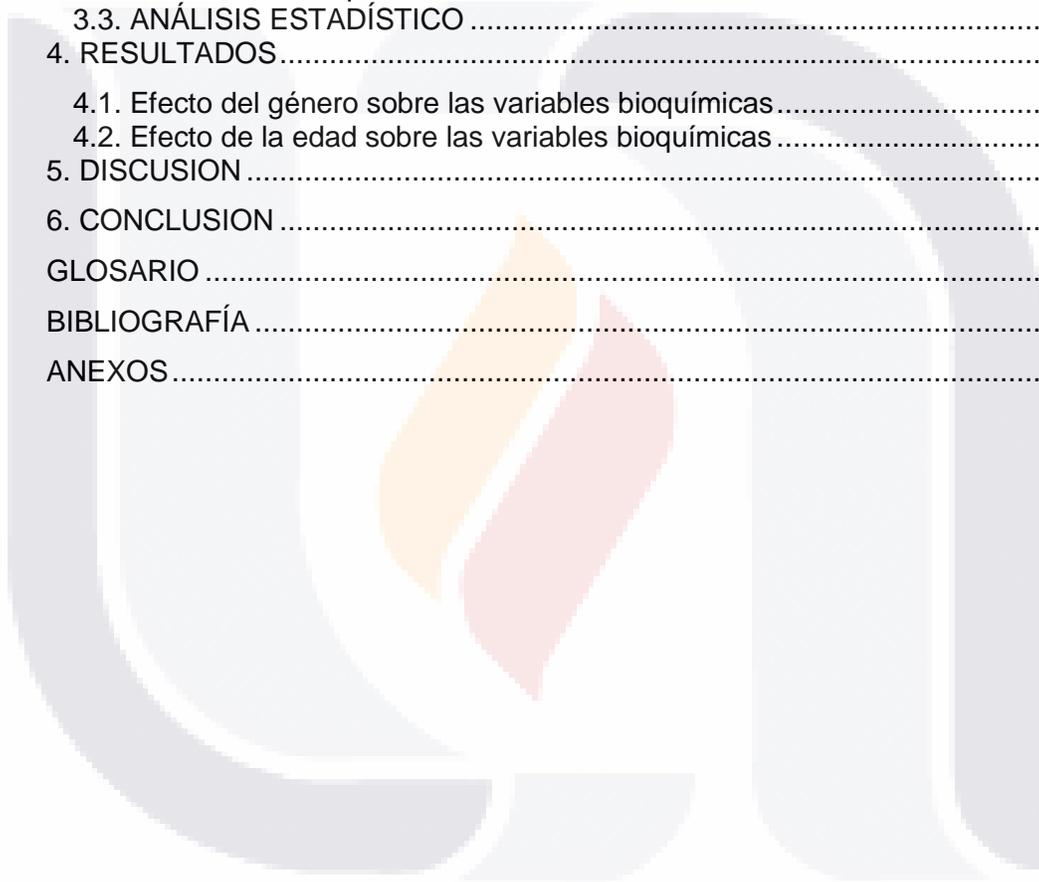
*A mis queridos suegros Martha Martínez Pacheco y Rogelio Cruz Camarillo por todo su cariño y apoyo desinteresado, por sus consejos y enseñanzas de vida.*

*A mis amados sobrinos Iker Ismael, Luis Fernando, Gerardo, Andrea, Mateo, Evelyn, Estefany, Ximena e Iker por su ternura y alegría que brindan a mi vida y me motivan a ser mejor persona.*

## ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIONES .....	3
RECONOCIMIENTOS.....	4
DEDICATORIA.....	10
ÍNDICE GENERAL.....	1
ÍNDICE DE CUADROS .....	3
ÍNDICE DE FIGURAS .....	4
ACRÓNIMOS .....	5
RESUMEN .....	6
ABSTRACT.....	7
INTRODUCCIÓN .....	8
1. ANTECEDENTES .....	10
1.1. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EN VETERINARIA .....	10
1.1.1. Colección, manejo y envío de muestras sanguíneas para laboratorio clínico .....	15
1.1.2. Influencia de los sueros hemolizados o lipémicos y de los anticoagulantes .....	18
1.1.3. Control de calidad y validación de la bioquímica sanguínea .....	19
1.2. FISIOLÓGÍA DE LOS INDICADORES DE DAÑO HEPÁTICO EVALUADOS EN BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	22
1.2.1. Alanino aminotransferasa (ALT).....	24
1.2.2. Aspartato aminotransferasa (AST) .....	27
1.2.3. Lactato deshidrogenasa (LDH) .....	28
1.2.4. Fosfatasa alcalina (FAS).....	29
1.2.5. Gamma glutamil transferasa (GGT) .....	31
1.2.6. Urea.....	32
1.2.7. Colesterol.....	33
1.2.8. Triglicéridos .....	36
1.2.9. Glucosa .....	37
1.2.10. Proteínas totales .....	40
1.2.11. Albúmina.....	41
1.2.12. Bilirrubina.....	42
1.3. FISIOLÓGÍA DE LOS INDICADORES DE DAÑO RENAL EVALUADOS EN BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	45
1.3.1. Creatinina .....	48
1.3.2. Urea.....	50
2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	53
2.1. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN .....	53
2.2. OBJETIVOS.....	53
2.2.1. Objetivo general.....	53

2.2.2. Objetivos específicos .....	53
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	54
3.1. DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN .....	54
3.1.1. Características generales de la población bajo estudio .....	54
3.1.2. Ubicación geográfica del estudio .....	55
3.1.3. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	56
3.1.4. Métodos de toma de muestra.....	56
3.1.5. Control de calidad .....	57
3.2. TÉCNICAS DE LABORATORIO .....	58
3.2.1. Pruebas bioquímicas indicadoras de daño hepático .....	59
3.2.2. Pruebas bioquímicas indicadoras de daño renal .....	63
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	64
4. RESULTADOS.....	65
4.1. Efecto del género sobre las variables bioquímicas.....	65
4.2. Efecto de la edad sobre las variables bioquímicas .....	65
5. DISCUSION .....	74
6. CONCLUSION .....	81
GLOSARIO .....	82
BIBLIOGRAFÍA .....	86
ANEXOS.....	97



## ÍNDICE DE CUADROS

<i>Cuadro 1. Cronología de bioquímica sanguínea en medicina veterinaria .....</i>	<i>15</i>
<i>Cuadro 2. Causas de incremento de ALT.....</i>	<i>26</i>
<i>Cuadro 3. Vida media de las enzimas hepáticas.....</i>	<i>26</i>
<i>Cuadro 4. Causas de incremento de AST.....</i>	<i>28</i>
<i>Cuadro 5. Causas de incremento de LDH.....</i>	<i>29</i>
<i>Cuadro 6. Causas de incremento de FAS.....</i>	<i>30</i>
<i>Cuadro 7. Causas de incremento de GGT.....</i>	<i>32</i>
<i>Cuadro 8. Causas de disminución e incremento del colesterol.....</i>	<i>35</i>
<i>Cuadro 9. Causas de incremento de triglicéridos.....</i>	<i>37</i>
<i>Cuadro 10. Causas de disminución e incremento de la glucosa.....</i>	<i>39</i>
<i>Cuadro 11. Causas de disminución e incremento de las proteínas totales.....</i>	<i>41</i>
<i>Cuadro 12. Causas de disminución e incremento de la albúmina.....</i>	<i>42</i>
<i>Cuadro 13. Causas de disminución e incremento de la bilirrubina.....</i>	<i>44</i>
<i>Cuadro 14. Causas de disminución e incremento de creatinina.....</i>	<i>50</i>
<i>Cuadro 15. Causas de disminución e incremento de urea.....</i>	<i>51</i>
<i>Cuadro 16. Factores de conversión de Urea/BUN.....</i>	<i>52</i>
<i>Cuadro 17. Niveles de control de calidad.....</i>	<i>57</i>
<i>Cuadro 18. Características de las técnicas de laboratorio.....</i>	<i>58</i>
<i>Cuadro 19. Valores de referencia por grupos de edades.....</i>	<i>73</i>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Robert Boyle (1627-1691)</i> .....	10
<i>Figura 2. Ensayos para una historia natural de la sangre humana de Robert Boyle (1627-1691)</i> .....	11
<i>Figura 3. Anatomía microscópica del hígado</i> .....	22
<i>Figura 4. Ciclo enterohepático</i> .....	23
<i>Figura 5. Fisiología normal y patológica de la ALT</i> .....	25
<i>Figura 6. Fisiología normal y patológica de la AST</i> .....	27
<i>Figura 7. Fisiología normal y patológica de la LDH</i> .....	28
<i>Figura 8. Fisiología normal y patológica de la FAS</i> .....	30
<i>Figura 9. Fisiología normal y patológica de la GGT</i> .....	31
<i>Figura 10. Fisiología normal y patológica de la urea</i> .....	33
<i>Figura 11. Fisiología normal y patológica del colesterol</i> .....	34
<i>Figura 12. Fisiología normal y patológica de triglicéridos</i> .....	37
<i>Figura 13. Fisiología normal y patológica de la glucosa</i> .....	39
<i>Figura 14. Fisiología normal y patológica de las proteínas totales</i> .....	40
<i>Figura 15. Fisiología normal y patológica de la albúmina</i> .....	42
<i>Figura 16. Fisiología normal y patológica de la bilirrubina</i> .....	43
<i>Figura 17. Esquema de las nefronas superficial y yuxtamedular</i> .....	47
<i>Figura 18. Fisiología normal y patológica de la creatinina</i> .....	49
<i>Figura 19. Diseño de la investigación</i> .....	54
<i>Figura 20. Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes</i> .....	55
<i>Figura 21. Ubicación geográfica del estudio</i> .....	55
<i>Figura 22. Actividad enzimática de ALT en suero sanguíneo</i> .....	66
<i>Figura 23. Actividad enzimática de LDH en suero sanguíneo</i> .....	66
<i>Figura 24. Actividad enzimática de GGT en suero sanguíneo</i> .....	67
<i>Figura 25. Actividad enzimática de FAS en suero sanguíneo</i> .....	67
<i>Figura 26. Concentración de colesterol en suero sanguíneo</i> .....	68
<i>Figura 27. Concentración de triglicéridos en suero sanguíneo</i> .....	68
<i>Figura 28. Concentración de proteínas totales en suero sanguíneo</i> .....	69
<i>Figura 29. Concentración de albúmina en suero sanguíneo</i> .....	70
<i>Figura 30. Concentración de glucosa en suero sanguíneo</i> .....	70
<i>Figura 31. Concentración de urea en suero sanguíneo</i> .....	71
<i>Figura 32. Concentración de creatinina en suero sanguíneo</i> .....	71
<i>Figura 33. Concentración de bilirrubina total en suero sanguíneo</i> .....	72
<i>Figura 34. Concentración de bilirrubina directa en suero sanguíneo</i> .....	72

## ACRÓNIMOS

<b>Abs</b>	Absorbancia	<b>n</b>	Número de observaciones
<b>ACTH</b>	Hormona adrenocorticotropa	<b>NAD</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferasa	<b>NADH</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferasa	<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza	<b>P</b>	Probabilidad de "F" en ANDEVA
<b>BCG</b>	Verde de bromocresol	<b>RAC</b>	Rama ascendente cortical
<b>BTS-350</b>	Equipo de espectrofotometría	<b>RAM</b>	Rama ascendente medular
<b>BUN</b>	Nitrógeno ureico	<b>RBF</b>	Flujo sanguíneo renal
<b>CK</b>	Creatina quinasa	<b>RD</b>	Rama descendente
<b>CS</b>	Creatinina	<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>dL</b>	Decilitro	<b>s</b>	Segundo
<b>DMSO</b>	Dimetulfóxido	<b>SC</b>	Segmento conector
<b>E.E.</b>	Error estándar	<b>SAS</b>	Statistical Analysis System
<b>FAS</b>	Fosfatasa alcalina	<b>SD</b>	Desviación estándar
<b>g</b>	Gramos	<b>SLDH</b>	Lactato deshidrogenasa sérica
<b>GGT</b>	Gama glutamil transferasa	<b>TCC</b>	Túbulo colector cortical
<b>GLDH</b>	Glutamato deshidrogenasa	<b>TCD</b>	Túbulo contorneado distal
<b>GLM</b>	Modelo lineal general	<b>TCME</b>	Túbulo colector medular externo
<b>GOT</b>	Glutamato oxalacético transaminasa	<b>TCMI</b>	Túbulo colector medular interno
<b>GPT</b>	Glutamato piruvato transaminasa	<b>TCP</b>	Túbulo contorneado proximal
<b>h</b>	Hora	<b>TFG</b>	Tasa de filtración glomerular
<b>HBD</b>	Hidroxibutirato deshidrogenasa	<b>TLLC</b>	Tiempo de llenado capilar
<b>Hg</b>	Mercurio	<b>TRP</b>	Túbulo recto proximal
<b>HV</b>	Hospital veterinario	<b>U/L</b>	Unidades por litro
<b>IFCC</b>	Federación Internacional de Química Clínica	<b>UAA</b>	Universidad Autónoma de Aguascalientes
<b>IC</b>	Intervalo de confianza	<b>µL</b>	Microlitro
<b>IR</b>	Intervalo de referencia	<b>µmol</b>	Micromol
<b>kg</b>	Kilogramo	<b>mmol</b>	Milimol
<b>L</b>	Litro	<b>&lt;</b>	Menor que
<b>LDH</b>	Lactato deshidrogenasa	<b>&gt;</b>	Mayor que
<b>MDH</b>	Malato deshidrogenasa	<b>%</b>	Por ciento
<b>mg</b>	Miligramo	<b>VLDL</b>	Lipoproteínas de muy baja densidad
<b>Máx.</b>	Máximo	<b>y col.,</b>	y colaboradores
<b>Mín.</b>	Mínimo		
<b>min</b>	Minuto		
<b>ml</b>	Mililitro		
<b>mm</b>	Milímetros		
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar		

## RESUMEN

Para determinar el estado fisiológico de un animal son necesarias pruebas diagnósticas comparables con valores de referencia; éstos se encuentran influenciados por factores internos y externos. Los valores definidos para perros adultos no son los apropiados para la evaluación de los pacientes pediátricos.

El objetivo fue obtener valores bioquímicos indicadores del funcionamiento hepático y renal en perros clínicamente sanos clasificados por edad y género; comparados con las fuentes de referencia.

Se realizó un estudio bajo un diseño no experimental de tipo transversal, fueron recolectadas un total de 240 muestras sanguíneas de perros clínicamente sanos clasificados por edad y género: (I) de 4 a 8, (II) 9 a 24, (III) 25 a 52 y (IV) mayores a 52 semanas de edad. Por medio de espectrofotometría se determinó ALT, AST, GGT, FAS, LDH, proteínas totales, albúmina, colesterol, urea, creatinina, glucosa, bilirrubina total y directa.

Los resultados fueron analizados con Minitab Statistical Software y con Reference Value Advisor V 2.1. Se encontraron valores más bajos de proteínas totales, albúmina, colesterol, triglicéridos, ALT, GGT, urea y creatinina en cachorros; mientras que la FAS, LDH y glucosa fueron mayores en cachorros que en adultos ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, los valores más representativos fueron los siguientes, la concentración de proteínas totales del grupo (I) fue menor en comparación con los valores de los adultos (IV) al obtener una media de 46.4 mg/L y 62.2 mg/L respectivamente. Por otro lado, la concentración de albumina en el grupo (I) fue de 25.1 mg/L mientras que en los adultos fue de 31.6 mg/L. Mientras tanto, la concentración de creatinina en el grupo (I) fue de 38.7  $\mu\text{mol/L}$  y en los adultos de 91  $\mu\text{mol/L}$ . Los valores de LDH fueron mayores en los cachorros del grupo (I) al obtener una media de 213.6 U/L mientras que en los adultos se obtuvo una media de 47.2 U/L. Con respecto a la FAS el grupo (I) obtuvo una media de 208.5 U/L a diferencia de los adultos que presentaron una media de 51.4 U/L. Algunos analitos bioquímicos se ven influenciados por la edad; por esta razón, es importante contar con una tabla de valores de referencia comparativa para lograr una mejor interpretación de los resultados.

### Palabras clave

Bioquímica sanguínea, patología clínica, valores de referencia, cachorros, perros.

## ABSTRACT

To determine the physiological state of an animal, comparable diagnostic tests are necessary along with reference values; these are influenced by internal and external factors. The values defined for adult dogs are not appropriate for the evaluation of pediatric patients.

The objective was to obtain biochemical values indicative of hepatic and renal functioning in clinically healthy dogs classified by age and gender; compared to the reference sources.

A study was carried out under a non-experimental cross-sectional design, a total of 240 blood samples from clinically healthy dogs classified by age and gender were collected: (I) from 4 to 8, (II) 9 to 24, (III) 25 To 52 and (IV) greater than 52 weeks of age. By means of spectrophotometry, ALT, AST, GGT, FAS, LDH, total proteins, albumin, cholesterol, urea, creatinine, glucose, total and direct bilirubin were determined.

Lower values of total proteins, albumin, cholesterol, triglycerides, ALT, GGT, urea and creatinine in pups were found; while FAS, LDH and glucose were higher in puppies than in adults ( $p < 0.05$ ). However, the most representative values were as follows, the total protein concentration of group (I) was lower in comparison with the values of adults (IV) when obtaining an average of 46.4 mg / L and 62.2 mg / L respectively. On the other hand, the concentration of albumin in group (I) was 25.1 mg / L whereas in adults it was 31.6 mg / L. Meanwhile, the creatinine concentration in group (I) was 38.7  $\mu\text{mol} / \text{L}$  and in adults 91  $\mu\text{mol} / \text{L}$ . The LDH values were higher in the pups of group (I) when they obtained a mean of 213.6 U / L whereas in adults an average of 47.2 U / L was obtained. With respect to FAS, the group (I) obtained an average of 208.5 U / L as opposed to the adults who presented an average of 51.4 U / L. The results were analyzed with Minitab Statistical Software and Reference Value Advisor V 2.1. Some biochemical analytes are influenced by age; for this reason, it is important to have a table of comparative benchmarks to achieve a better interpretation of the results.

### Keywords

blood biochemistry, clinical pathology, reference values, pups, dogs.

## INTRODUCCIÓN

La bioquímica sanguínea es un grupo de exámenes de la sangre que suministra información acerca del metabolismo del cuerpo; más del 97% de los analitos de rutina pueden ser evaluados a partir del suero (Núñez, 2005).

El interpretar los resultados de un laboratorio, funciona para reconocer un cambio significativo en uno o más metabolitos, al tomar como referencia los valores de un grupo de animales de la misma especie con condiciones fisiológicas y ambientales similares, conocidos como valores de referencia, éstos se definen como el rango para una variable biológica, en el que se encuentra la mayoría de los individuos de una población clínicamente sana (Wittwer, 2008).

Los valores de referencia han pasado desapercibidos en la medicina veterinaria; cuando éstos proporcionan información de la variabilidad biológica y analítica. La variación aleatoria relacionada con los analitos se conoce como variabilidad biológica; ésta variación es poco usada en medicina veterinaria, no obstante tienen múltiples aplicaciones que incluyen el establecer objetivos analíticos, predecir la utilidad de los valores de referencia basados en la población y evaluar la importancia de los cambios en los resultados seriales (Walton, 2012).

Es una práctica común, evaluar los resultados de laboratorio en base a un rango de referencia universal, no resulta correcto debido a que en el establecimiento de esos valores de referencia tuvo influencia una serie de factores ambientales (ubicación geográfica, clima, manejo, alimentación), genéticos (especie, raza, sexo) y fisiológicos (edad, gestación, lactancia, post-pandrial) así como la variabilidad metrológica producto del tipo de técnica y equipos empleados en su valoración (Barrios y col., 2013).

Al usar los valores de referencia durante la práctica médica, el especialista recurre a los manuales clásicos de información veterinaria o a publicaciones de trabajos realizados sobre los componentes sanguíneos en animales (Meyer y Harvey, 2000). Además, los laboratorios encargados del procesamiento de las muestras, comúnmente refieren valores normales provenientes de laboratorios y universidades extranjeras que no están adaptados a las condiciones del país o región (Castellanos y Castellanos, 2010).

Los valores de referencia se utilizan para diferenciar pacientes sanos de enfermos, para el pronóstico y evaluación de los factores de riesgo, así como para monitorear la efectividad de un tratamiento (Castellanos y Castellanos, 2010); signos inespecíficos de enfermedad e información limitada acerca de los valores bioquímicos esperados en los cachorros, provocan una dificultad para establecer un diagnóstico diferencial (Rosset y col., 2012). Puesto que la fisiología de un cachorro no es la misma que la de un adulto, ya que un cachorro pasa por diversos cambios durante su crecimiento (Davidson y Mas, 2007). Estos valores de referencia para adultos no deben utilizarse para cachorros pues esto podría causar una mala interpretación de los resultados (O'Brien y col., 2014). Se deben utilizar valores de referencia apropiados para una evaluación precisa de los resultados de pruebas bioquímicas (Levy y col., 2006).

Además es importante realizar estudios en donde se obtengan valores de referencia bioquímicos en perros, lo cual permitirá reforzar la información para estandarizar los valores de referencia nacionales; así como también realizarse estudios relacionados con el tema en perros menores de 1 año a fin de establecer grupos en etapas diferentes (von Dehn, 2014).

Los sujetos en estudio fueron 240 perros sanos desde el punto de vista clínico, clasificados en grupos de diferentes edades y género, que fueron aceptados de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión.

Puesto que es necesario contar con valores de referencia específicos; el objetivo de este estudio es obtener los valores bioquímicos indicadores del funcionamiento hepático y renal en perros clínicamente sanos atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes clasificados por edad y género; para elaborar una tabla de valores normales comparados con las fuentes de referencia.

## 1. ANTECEDENTES

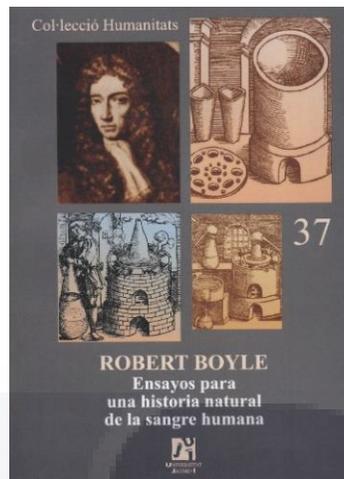
### 1.1. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EN VETERINARIA

La bioquímica sanguínea o clínica tuvo su mayor desenvolvimiento a partir de la década de 1950, entretanto el primer congreso de química clínica ocurrió en 1957; sin embargo, su aplicación en el estudio de las enfermedades comenzó con el inglés Robert Boyle, con su publicación en 1684 “Memorias para la historia natural de la sangre humana” donde describe las posibilidades del análisis clínico en la sangre y en la orina ( Kerseboom, 1689; figura 1)



**Figura 1. Robert Boyle (1627-1691)**

Esta obra se observa en la figura 2 que se traduce del latín (idioma científico de aquella época) al castellano y citada en la bibliografía de Boyle como un libro de medicina, al ser un compendio de experimentos, casi todos ellos físico-químicos, aplicados a la investigación de la sangre humana, puede ser aceptada, como una de las obras precursoras de la química fisiológica (Boyle y Conesa, 2011). Además, el primer libro de química clínica fue publicado en 1883, por C.H. Ralfe quien describió el análisis químico de la sangre, orina y tejidos; seguido por el francés L. Bourget en 1891 con su publicación “Manual de química clínica” (Díaz y Ceroni da Silva, 2006).



**Figura 2. Ensayos para una historia natural de la sangre humana de Robert Boyle (1627-1691)**

La determinación e interpretación de los componentes químicos de la sangre son algunas de las principales aplicaciones prácticas de la bioquímica clínica (Díaz y Ceroni da Silva, 2006). Un perfil bioquímico sanguíneo se realiza de manera rutinaria para detectar el estado de salud y de enfermedades inducidas por condiciones patológicas, al comparar los resultados con valores de referencia normales en medicina veterinaria (Katayev y col., 2010).

Un valor de referencia, también conocido como “límite de decisión médica”, según lo definido por Ceriotti (2007); es un intervalo que sí se aplica a la población atendida por el laboratorio, incluye correctamente la mayoría de los sujetos con características similares a las del grupo de referencia y excluye a los demás. En consecuencia, los valores de referencia son esenciales para la interpretación de los resultados de pruebas de laboratorio clínico; sin embargo un resultado por sí mismo es de poco valor si no se acompaña con la información adecuada para su interpretación (Katayev y col., 2010).

Muy pocos laboratorios realizan sus propios estudios de valores de referencia, por ende los laboratorios y fabricantes se basan en estudios realizados décadas atrás, cuando los métodos y la población eran muy diferentes. Hasta ahora, la mayoría de los valores de referencia se han apoyado en los obtenidos en perros adultos, por esta razón no siempre pueden usarse en animales jóvenes (Sako y col., 2011).

Los factores individuales (raza, edad y sexo), factores ambientales (temporada y clima, procesos fisiológicos) y sociales pueden tener efectos en los individuos clínicamente "normales" y provocar variaciones significativas en los valores de

referencia (Rautenbach y Joubert, 1988). Como consecuencia de la influencia del ambiente sobre los valores de los componentes sanguíneos, es importante obtener valores regionales y no utilizar los obtenidos en otros países (Castellanos y *col.*, 2009).

Con respecto a los factores individuales se han encontrado algunos estudios que hablan acerca del tema desde su evolución hasta su estado actual; como el de Konrad y *col.*, (1980) quienes determinaron 26 propiedades bioquímicas en 72 perros sanos de la raza pastor alemán de diferentes edades entre 6.5 meses hasta 7 años. También algunos autores estudiaron la variación de la actividad enzimática plasmática con respecto a la edad y género (Keller y Wall, 1982). Al igual que Strasser y *col.*, (1993) examinaron la variación en los valores bioquímicos, asociados con la edad, con el fin de establecer los valores normales para perros de cierta edad.

Por su parte, Mischke (1994) estudió la relación de la edad, el sexo y la raza con respecto a la actividad de los factores de coagulación II, V, VII y X en perros sanos. Mientras tanto Hinchcliff (1996) relacionó la bioquímica sanguínea con el rendimiento en perros de trineo. En ese mismo año, Mischke y *col.*, (1996) observaron el efecto de la concentración sanguínea de albúmina en relación con la concentración de calcio ionizado y calcio total en perros.

Kuhl y *col.*, (2000) determinaron los valores de referencia de la concentración plasmáticas de albúmina, proteínas totales, glucosa, bilirrubina total, urea, creatinina, colesterolina, triglicéridos, así como también la actividad de la fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa y glutamato deshidrogenasa, basándose en cachorros sanos durante las primeras 8 semanas de vida; en donde observaron que a menudo los valores de referencia en cachorros estaban por debajo de los propuestos para adultos.

Otros autores como Sharkey y *col.*, (2009) encontraron diferencias en los analitos bioquímicos sanguíneos con relación a la raza. Además se han desarrollado valores de referencia para los analitos bioquímicos determinados de manera estadística, en perros galgos sanos que no son utilizados en las competencias de carreras de esta raza y también en relación al género (Dunlop y *col.*, 2011). Por su parte, Aleman y *col.*, (2000) encontraron diferencias en los parámetros bioquímicos en función al género en diferentes especies. Sin embargo, Jangsangthong y *col.*, (2012) mencionan que poco se sabe acerca del género.

Asimismo Castellanos y Castellanos (2010) después de elaborar su estudio en perros adultos concluyen que deben desarrollarse estudios para determinar valores bioquímicos de referencia en perros de otras regiones del país, que permitirá consolidar información suficiente para estandarizar los valores de referencia nacionales; así como también realizar estudios relacionados con el tema, en perros menores de un año. Por su parte, Schafers y *col.*, (2013) observaron que los valores de referencia para alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina en perros jóvenes menores a un año y adultos mayores a 10 años de edad difieren de manera significativa de los adultos de 1 a 9 años de edad.

Algunos otros autores también han determinado que existen diferencias en los parámetros bioquímicos en relación a la raza (Sheerer y *col.*, 2013; Uhrikova y *col.*, 2013; Zaldivar y *col.*, 2011). Asimismo se ha encontrado que los parámetros bioquímicos en el plasma cambian con la edad (Ikeuchi y *col.*, 1991), en consecuencia, establecer los valores de referencia de parámetros bioquímicos para perros jóvenes menores a un año de edad, es considerado de gran utilidad para el clínico veterinario y el investigador (Sako y *col.*, 2011).

En la actualidad se ha identificado que los valores de referencia se ven influenciados por la raza, edad, peso corporal y género (Misbach y *col.*, 2014). Sin embargo, a pesar de la importancia que representan los análisis sanguíneos, la información de los valores de referencia de bioquímica sanguínea en perros cachorros y adultos sanos es muy escasa (von Dehn, 2014; Rortveit y *col.*, 2015).

Existen otros trabajos en los que han determinado el efecto del ejercicio sobre los valores bioquímicos sanguíneos en perros (McKenzie y *col.*, 2007). Además algunos han desarrollado un estudio para conocer la importancia de utilizar la bioquímica sanguínea en perros que serán anestesiados y de este modo establecer las pruebas previas más útiles para evaluar el riesgo anestésico (Alef y *col.*, 2008).

Otros aspectos reportados en relación a la variación de los valores bioquímicos, son las condiciones de la recolección de la muestra, el sitio de punción y el método usado para la determinación (Comazzi y *col.*, 2004).

Con respecto a los factores que pueden influir en la toma y procesamiento de muestra, Tasker (1978) observó que la presencia de anticoagulantes, hemólisis, lipemia o hiperbilirrubinemia, a menudo eran las responsables de inconsistencias en los resultados de la bioquímica sanguínea. Algunos estudios han evaluado la

influencia de los ciclos de congelación y descongelación sobre los componentes plasmáticos, como resultado obtuvieron que los ciclos de congelación y descongelación repetidos no provocan cambios en los componentes bioquímicos estudiados en el plasma canino (Reynolds y *col.*, 2006).

En medicina veterinaria se han determinado varios metabolitos, enzimas y electrolitos en suero sanguíneo de diferentes especies, con el fin de revisar la bioquímica sanguínea seca (Tschudi, 1995). Otros autores han comparado los valores de creatinina, glucosa, proteínas, urea, alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina en plasma canino, obtenidos con diferentes analizadores para bioquímica sanguínea seca como Spotchem SP 4430 y Vitros 250 (Trumel y *col.*, 2005). También se han realizado estudios para comparar los analizadores de bioquímica sanguínea húmeda (Papasouliotis y *col.*, 2006; Geffre y *col.*, 2008).

Otros autores realizaron un estudio en perros, para señalar las principales diferencias en los parámetros bioquímicos, que ayuden a determinar si la diferencia entre dos resultados analíticos consecutivos puede atribuirse con seguridad a la variación natural (Jensen y Aaes, 1993).

Entretanto Hilppo, (1986) determinó los 10 parámetros bioquímicos más frecuentes en veterinaria como: alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FAS), gamma glutamil transferasa (GGT), creatina quinasa (CK), urea, creatinina, colesterol, proteínas totales y albúmina. Otros autores analizaron muestras de sangre de 60 casos clínicos en perros, en los que midieron 18 analitos (urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, CK, AST, ALT, FAS, bilirrubina total, amilasa, lipasa, glucosa, triacilglicerol, colesterol, calcio total, fosfato, sodio y potasio) de mayor importancia diagnóstica (Papasouliotis y *col.*, 2008)

A continuación en el cuadro 1 se observa una síntesis de algunas referencias que hablan a cerca de la evolución y estado actual de la bioquímica sanguínea en medicina veterinaria.

**Cuadro 1. Cronología de bioquímica sanguínea en medicina veterinaria**

<b>AÑO</b>	<b>AUTOR</b>	<b>APORTACIONES</b>
1974	Henry y Reed	Factores individuales, ambientales y procesos fisiológicos provocan variaciones en los valores de referencia.
1978	Tasker	Los anticoagulantes, hemólisis, lipemia o hiperbilirrubinemia son responsables de inconsistencias en los resultados de bioquímica sanguínea.
1979	Lumsden y col.,	Cada laboratorio es capaz de generar valores de referencia; estos son útiles para los clínicos e investigadores
1982	Keller y Wall	Variación de la actividad enzimática plasmática con respecto a la edad y género
1986	Hilppo	Midió parámetros bioquímicos como: ALT,AST,FAS,GGT,CK, urea, creatinina, colesterol, proteínas totales y albúmina
1993	Strasser y col.,	Examinaron cambios en los valores asociados con la edad
1995	Tschudi	Bioquímica sanguínea seca
1999	Freeman y Gruenwaldt	Validación de control de calidad para los laboratorios veterinarios
2000	Kuhl y col.,	Parámetros bioquímicos en cachorros durante las primeras 8 semanas de vida
2006	Papasouliotis y col.,	Comparación de valores con diferentes analizadores de bioquímica húmeda
2009	Sharkey y col.,	Diferencias en parámetros bioquímicos con relación a la raza
2010	Castellanos y Castellanos	Valores de referencia en grupos de perros adultos
2012	Jangsangthong y col.,	Parámetros bioquímicos en relación a la raza y edad; poco se sabe del género
2013	Schafers y col.,	Los valores de referencia requieren de re-evaluación regular porque a través de los avances y nuevos conocimientos, algunos de los factores relacionados con su determinación, en particular los métodos y equipos, están en constante cambio
2014	Von Dehn	Valores de referencia en cachorros

Fuente: Elaboración propia

**1.1.1. Colección, manejo y envío de muestras sanguíneas para laboratorio clínico**

No existe en el organismo ningún tejido con tantas funciones fisiológicas como el tejido líquido que es la sangre, componente importante del cuerpo por sí misma, transporta además casi todas las materias necesarias para la vida, en macro o microporciones. Por ello es comprensible que la mayor parte de las determinaciones

analíticas de laboratorio se realicen en sangre total, plasma sanguíneo o suero, como materia prima.

El plasma se obtiene de la sangre con anticoagulante, por centrifugación y contiene un 90% de agua y un 10% de sustancias disueltas. El suero es un líquido sobrenadante sobre el coagulo sanguíneo, después de retraído. Se trata de una parte del plasma, pero sin fibrinógeno ni protrombina (solo residuos). Sin embargo contienen trombina. El contenido de minerales del suero esta también más o menos disminuido respecto al plasma. Por cada 10 mililitros de sangre se obtiene en el perro de 4 a 5 ml de suero (Kraft y *col.*, 1998).

La sangre es un medio importante para evaluar el estado de salud de los animales. Tanto las condiciones fisiológicas como las patológicas pueden ser evaluadas por los análisis bioquímicos de la sangre (Khan y *col.*, 2011).

Muchas situaciones afectan los parámetros de bioquímica sanguínea incluidos los métodos de toma de muestras y preparación, equipos, reactivos y métodos de análisis (Washington y Van Hoosier, 2012). Por lo tanto, la exactitud de las evaluaciones de laboratorio depende en gran parte de la calidad en la colección, preparación y transporte de las muestras, de tal forma que el éxito del uso del laboratorio está relacionado con el cuidado que se tiene desde la toma de muestras, hasta la ejecución de las técnicas de análisis y el informe de resultados (Núñez, 2005).

En la práctica deben elegirse las técnicas más adecuadas para las determinaciones. Los equipos comerciales de reactivos (kits) llevan incorporadas las instrucciones para su uso, con la técnica recomendada por el productor. Los siguientes parámetros tienen una importancia especial en clínica veterinaria:

- Alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), lactato deshidrogenasa (LDH), fosfatasa alcalina (FAS), gama glutamil transferasa (GGT), urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, glucosa, proteínas totales, albúmina y bilirrubina (total, directa e indirecta). Además de sodio, potasio, cloro, calcio, fosforo, hierro y magnesio (Papasouliotis y *col.*, 2008).

Es conveniente insistir en que el muestreo debe efectuar antes de cualquier tratamiento, para que sirva como referencia cuando se haga el seguimiento del paciente. Con una sola evaluación sanguínea es difícil establecer si los resultados detectados son anormales o si se encuentran sin variaciones. Una segunda

evaluación permite detectar la resolución del problema o una exacerbación de éste, además facilita establecer un pronóstico con mayor precisión (Schaer, 2009).

En condiciones ideales, la muestra debe tomarse con el paciente en ayuno de 12 horas, en la práctica pocas veces es necesario dar estas indicaciones a los propietarios, debido a que los pacientes llegan a la clínica con hiporexia, anorexia o con un efecto postprandial (efectos posteriores a la ingestión de alimento) mínimo o inexistente (Núñez, 2005).

Para obtener una muestra de sangre en perros se recomienda puncionar las venas cefálica, safena o yugular. En caso de que los animales sean cachorros, de talla pequeña o con una hipovolemia importante se prefieren las yugulares. Se debe hacer la limpieza de la zona de punción con antisépticos como el alcohol, ésta debe secarse con una torunda de algodón, de lo contrario se corre el riesgo de que entre el alcohol a la aguja por capilaridad y se produzca una hemólisis, lo cual afecta la calidad de la muestra en hematología y bioquímica (Schaer, 2009).

Sin embargo, en un estudio realizado para investigar la diferencia en la concentración de varios componentes de la sangre en bioquímica sanguínea de muestras obtenidas de vena yugular y vena cefálica externa; no observaron diferencias decisivas en los resultados, pero en el caso de la creatinina se encontró una diferencia significativa en los resultados de las pruebas entre las dos venas; los resultados más altos en general se midieron en sangre venosa yugular. Estos hallazgos indican que puede ser aconsejable establecer procedimientos estandarizados en la obtención de muestras de sangre y hacer ajustes en la interpretación de los resultados (Jensen y col., 1994).

Mientras tanto, para favorecer la acumulación de la sangre en el interior de la vena seleccionada, se aplica un torniquete cercano durante un máximo de 10 segundos antes de la venopunción, pues mantenerlo por mayor tiempo produce un aumento de la masa eritroide por retención de eritrocitos en mayor proporción que el plasma. El animal debe encontrarse lo menos excitado posible para minimizar las variaciones fisiológicas que estos estados traen consigo (Schaer, 2009).

Las muestras deben identificarse con los siguientes datos:

a) Nombre del paciente, especie, raza, edad, hora y fecha de muestreo.

- b) Señalar con tinta roja si existe sospecha de rabia, tuberculosis, brucelosis, leptospirosis, salmonelosis u otra enfermedad transmisible al hombre, con el fin de aumentar las precauciones durante el manejo de la muestra en el laboratorio.
- c) Describir la anamnesis con los hechos más relevantes, como la presencia de diarrea, vómito, anorexia, hiporexia, fiebre, etc. y mencionar los días de duración.
- d) Indicar si al animal se le ha administrado algún tratamiento médico y cuánto tiempo tiene de recibirlo, particularmente en los casos de terapia de líquidos y de electrolitos, cortico terapia de larga acción, transfusiones sanguíneas; pues aunque la terapia haya sido concluida, sus efectos en la sangre permanecen durante 5 días o más.
- e) Debe señalarse cualquier tipo de cirugía que se haya realizado, la fecha del procedimiento y las evaluaciones posquirúrgicas (Birchard y Sherding, 2006).

### **1.1.2. Influencia de los sueros hemolizados o lipémicos y de los anticoagulantes**

La hemólisis o los sueros lipémicos no interfieren en las siguientes determinaciones: colinesterasa, lípidos totales, glucosa. La reacción del Biuret, para determinar proteínas totales, se ve influida por los sueros hemolizados, lipémicos o ictericos. Los sueros hemolizados interfieren en las determinaciones de colesterol, fosfatasa alcalina, bilirrubina, creatinina, hierro, así como la actividad enzimática de AST, ALT, GGT, lactato deshidrogenasa (LDH), fosfatasa acida, urea y fosforo inorgánico. Los sueros lipémicos, por el contrario, no interfieren con estas reacciones. Aunque parezca muy práctico usar anticoagulantes para conservar la sangre durante cierto tiempo, no por ello debe creerse que todos los elementos sanguíneos formes, en especial las células, pueden mantenerse indefinidamente (Kraft y *col.*, 1998).

Un estudio realizado en muestras obtenidas en tubos que contenían heparina de litio midieron las concentraciones de albúmina, nitrógeno ureico en sangre (BUN), colesterol, creatinina, glucosa, bilirrubina total, proteína total, FAS, ALT, AST y CK; proporcionado resultados bioquímicos equivalentes, en comparación con los resultados de las muestras obtenidas mediante el uso de tubos sin anticoagulante, observaron a su vez que se minimiza el volumen total de la muestra recogida para las pruebas de diagnóstico; sin embargo notaron diferencias en la concentración de glucosa y colesterol (Whittemore y Flatland, 2010).

También se ha estudiado los efectos de anticoagulantes (heparina, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), citrato de sodio y oxalato de sodio / fluoruro de potasio) y sin anticoagulante en los resultados de bioquímica sanguínea en perros, observaron diferencias en la albúmina en relación con el suero y plasma heparinizado, también encontraron una disminución significativa de fosfatasa alcalina y albúmina cuando se usó EDTA. En cuanto al citrato de sodio, éste produjo una disminución del 10-15% en la mayoría de los metabolitos y enzimas, debido a un efecto de dilución de la muestra; el uso de oxalato de sodio/ fluoruro de potasio provocó hemólisis en las muestras, que pudo haber producido cambios en algunos parámetros bioquímicos (Ceron y col., 2004).

Cuando la concentración o actividad de un analito se encuentra aumentada o disminuida de manera incorrecta, es difícil interpretar los resultados de las pruebas de laboratorio con precisión (Thomas, 2004).

### **1.1.3. Control de calidad y validación de la bioquímica sanguínea**

En 1970 la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) creó un grupo de expertos en la teoría de los valores de referencia. Este panel publicó recomendaciones con el objetivo de desarrollar una nomenclatura y recomendar procedimientos para la producción, tratamiento y presentación de los valores de referencia. Aspectos tales como nomenclatura de los valores de referencia, la selección de individuos de referencia, colección estandarizada de especímenes, métodos analíticos y métodos estadísticos, existen 6 publicaciones consideradas como piedras angulares respecto al tema, la más actual es la propuesta de (Solberg y Stamm, 1991).

En diciembre de 2009, la Sociedad Americana de Patología Clínica Veterinaria (ASVCP) y el comité de Normas de Aseguramiento de la Calidad del Laboratorio, publicaron la actualización de las directrices destinadas para su uso en los laboratorios de diagnóstico e investigación veterinaria que no están cubiertos por las normas de la Food and Drug Administration de Buenas Prácticas de Laboratorio (Flatland y col., 2010; Vap y col., 2012).

Las directrices de control de calidad, el mantenimiento de instrumentos, manejo y recolección de muestras, son de gran importancia para obtener resultados

consistentes y precisos, además de minimizar la variación atribuible al instrumento o error del operador (Chapman y Hostutler, 2013).

Es imposible establecer valores de referencia fiables para cada individuo, o incluso para cada laboratorio, los valores de referencia basados en el estándar de la población son muy valiosos ya que pueden ser utilizados para evaluar los resultados obtenidos de los laboratorios (Kley y *col.*, 2003). Sin embargo, es necesario que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, en base a la especie animal, zona agroecológica, raza, sexo, edad y condición fisiológica, lo que les permitirá obtener rangos referenciales más sensibles que faciliten el diagnóstico de algún desequilibrio fisiológico o patológico (Barrios y *col.*, 2013).

Los valores de referencia deben ser utilizados para ayudar a la interpretación de las observaciones obtenidas a partir de un animal o animales de origen comparable, es decir subpoblación similares y sólo si siguen las mismas técnicas de laboratorio. Cada laboratorio es capaz de generar valores de referencia con tamaños de muestra adecuados y la metodología actual para las numerosas subpoblaciones de interés (Lumsden y *col.*, 1979).

Además, muchos analitos incluidos de rutina en bioquímica sanguínea tienen alta individualidad; por lo tanto, el uso de valores de referencia estándar para monitorear los cambios en un individuo a través del tiempo, puede implicar perder un cambio biológico significativo (Ruauy y *col.*, 2012). Debido a la individualidad de la mayoría de los analitos los valores de referencia basados en la población son de escasa utilidad (Baral y *col.*, 2014).

La variación biológica se refiere a la variación fisiológica propia de los analitos; la relación de la variación biológica individual a la biológica grupal se le conoce como el índice de individualidad de un analito. Este índice determina la capacidad de un analito en relación con la población o valores de referencia basados en la literatura. Un valor de referencia basado en la literatura se conoce también como una variación de referencia y se calcula a partir de la variación biológica individual (Baral y *col.*, 2014).

La aplicación de los conceptos de la variación biológica, la individualidad y variación de referencia, puede permitir en los laboratorios de diagnóstico ofrecer valores de referencia más sensibles para evaluar la salud y detectar la enfermedad (Walton, 2012). Por lo tanto, los médicos deben ser conscientes de los cambios

temporales en valores bioquímicos en cachorros para evitar una incorrecta interpretación de los resultados (Rosset y *col.*, 2012).

Dado que las decisiones para los diagnósticos o el inicio de un tratamiento a menudo se basan en los valores que quedan fuera del rango de referencia; la recopilación y análisis de los valores de referencia deben ser abordados con cuidado (Friedrichs y *col.*, 2012). Por ello, la planificación minuciosa de los procesos analíticos también es necesaria para garantizar que las pruebas rutinarias logren el rendimiento analítico deseado (Westgard, 1992).

Como todos los equipos de laboratorio tienen componentes que pueden degradarse con el tiempo, se debe efectuar una evaluación inicial y periódica de su desempeño para verificar resultados exactos y precisos durante la vida del instrumento (Harr y *col.*, 2013). Es por ello que los valores de referencia necesitan de una re-evaluación constante ya que a través de los avances y nuevos conocimientos, algunos de los factores relacionados con su determinación, en particular los métodos y equipos, están en constante cambio (Schafers y *col.*, 2013).

Algunos hallazgos al respecto indican la necesidad del control de calidad específico para cada analito y la validación independiente en cada instrumento (Farr y Freeman, 2008). De la misma forma (Freeman y Gruenwaldt, 1999) mencionan que es recomendable la validación del control de calidad para todos los laboratorios veterinarios como una herramienta útil en la gestión de la calidad.

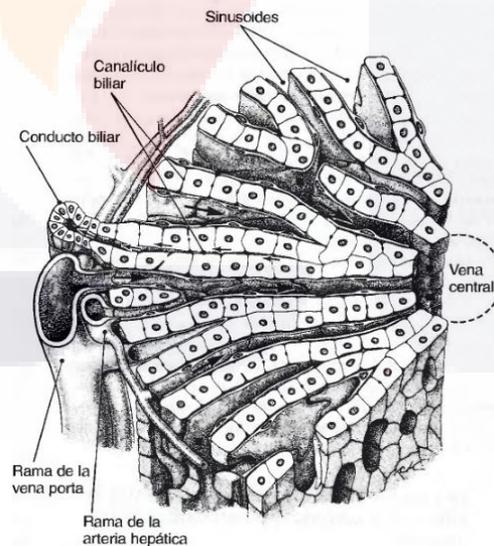
Los resultados de muchos ensayos de laboratorio de rutina proporcionan información de diagnóstico importante y son una parte fundamental para la atención del paciente en muchas situaciones. Asegurar la precisión de estos resultados no sólo es importante desde el punto de vista diagnóstico, sino que también puede evitar la frustración relacionada con el esfuerzo de la recopilación y análisis de muestras que no producen resultados interpretables (Meinkoth y Allison, 2007).

En base a todos estos argumentos, estudios actuales han tenido el objetivo de validar los valores de referencia existentes de perros sanos y establecer nuevos valores para cada uno de los analitos (Nielsen y *col.*, 2010). Así como también evaluar la calidad de las pruebas bioquímicas en los laboratorios veterinarios (Rishniw y *col.*, 2012). Sin embargo, aún hay más camino por recorrer en este tema.

## 1.2. FISIOLÓGÍA DE LOS INDICADORES DE DAÑO HEPÁTICO EVALUADOS EN BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

El hígado se compone de láminas o monocapas de hepatocitos (figura 3), irrigadas por ambos lados por la sangre procedente de las sinusoides hepáticas. Entre cada hilera de células hay un pequeño espacio formado por los pliegues de las membranas plasmáticas de dos células yuxtapuestas. La parte de la membrana que tapiza estos espacios se aísla del resto de la misma y establece estrechas uniones que convierten estos huecos en compartimentos independientes del medio extracelular que los rodea. Estos espacios se unen en hileras para formar canaliculos, que desembocan en los ductos biliares. Los hepatocitos secretan la bilis a estos canaliculos y de aquí a los conductos biliares. Estos canaliculos podrían considerarse como acinos recubiertos de hepatocitos que vierten su secreción a las vías biliares (Cunningham y Klein, 2013).

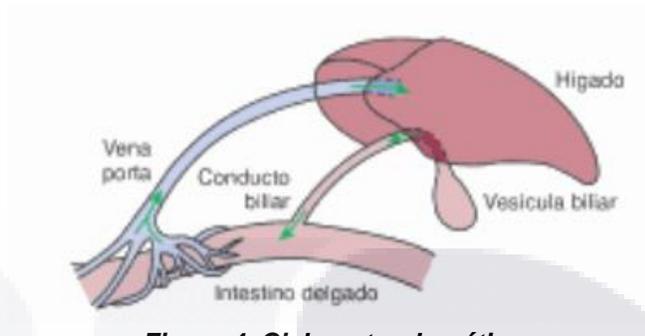
El hígado tiene funciones metabólicas muy importantes de síntesis, captación, conjugación, secreción y desintoxicación, que lo convierten en un órgano susceptible de desarrollar inflamaciones, infecciones, degeneraciones y neoplasias. Por esta razón, se debe evaluar el funcionamiento y la integridad hepatocelular (Núñez, 2005).



**Figura 3. Anatomía microscópica del hígado**

Fuente: Cunningham y Klein, 2013

La circulación enterohepática (figura 4) es el flujo de los ácidos biliares desde el hígado al intestino, a la sangre del sistema porta, de nuevo al hígado y al intestino (Cunningham y Klein, 2013).



**Figura 4. Ciclo enterohepático**

Fuente: Cunningham y Klein, 2013

La función del hígado se evalúa con enzimas hepáticas que son indicadores sensibles para la detección de enfermedad y / o colestasis; sin embargo, a menudo no son específicos para una causa primaria. El aumento de actividad de las enzimas séricas puede ocurrir en animales clínicamente normales y en animales con y sin enfermedad hepática. Además, la detección de otras anomalías bioquímicas, tales como hipoproteinemia, hipoglucemia o hipocolesterolemia, también pueden ser de utilidad para evaluar el funcionamiento hepático (Chapman y Hostutler, 2013).

La gravedad del aumento en sangre de enzimas como ALT y AST depende de la concentración celular y la localización subcelular. El aumento de enzimas que se encuentran tanto en el citosol como en mitocondrias sugiere un mayor grado de lesión de las células en comparación con las que solo se encuentran en citosol. Mientras que enzimas como FAS y GGT son asociadas con la membrana celular y su gravedad depende de la capacidad para la producción enzimática. Dicha gravedad puede ser interpretada de acuerdo con las veces que aumento la actividad enzimática en sangre por encima del límite superior, es decir, de 2 a 3 veces se considera gravedad leve; de 4 a 5 veces se considera moderada y mayor a 10 veces se considera marcada (Brunch, 2003).

### 1.2.1. Alanino aminotransferasa (ALT)

También conocida como glutamato piruvato transaminasa (GPT). Se encuentra en hígado, pero también se localiza en cantidades menores en encéfalo, riñón, glóbulos rojos, músculo esquelético y cardíaco. No se une a las mitocondrias y se encuentra en altas concentraciones en el citoplasma de las células hepáticas. La estabilidad *in vitro* es de 7 días a 4°C (Lassen, 2004).

Es específica del hígado en pequeñas especies, su actividad supera a la de otras enzimas hepáticas (Núñez, 2005). Esta enzima es un catalizador en la reacción de la desaminación de la alanina, donde se obtiene la producción de piruvato que entra en el ciclo de Krebs o la vía de gluconeogénesis (Stockham y Scott, 2008).

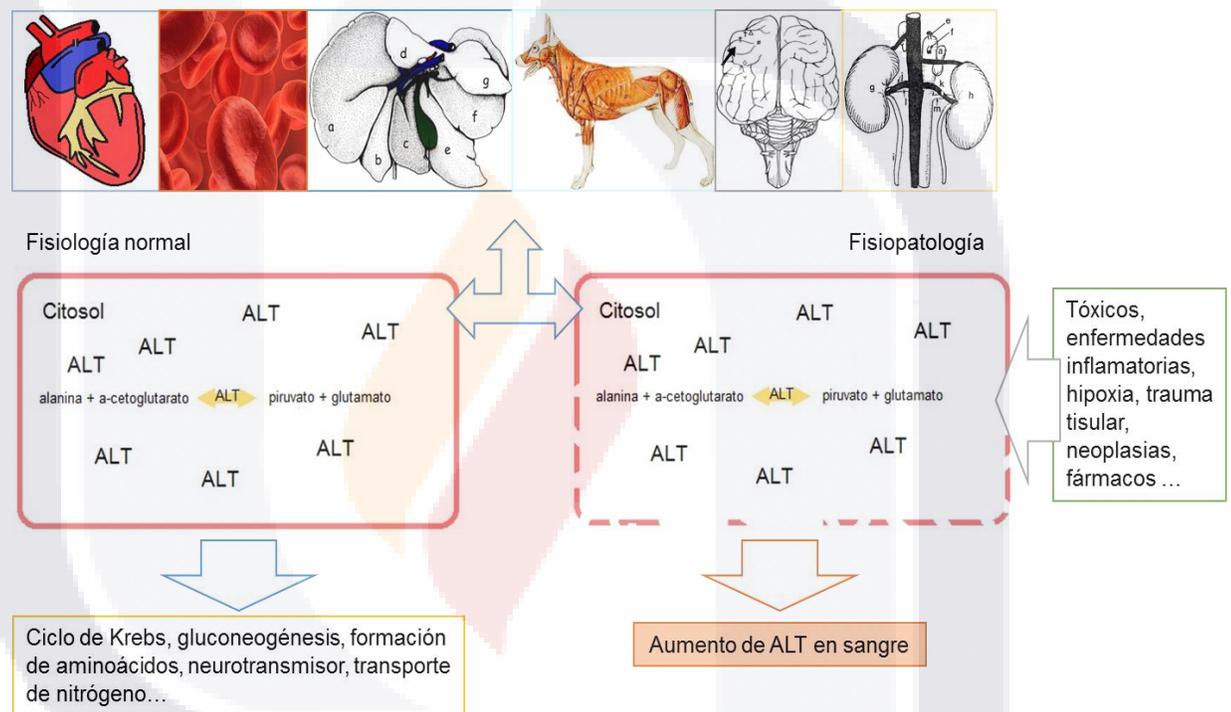
No tiene isoenzimas específicas; las concentraciones de ALT en el corazón y en el riñón son de un cuarto y un décimo de la concentración hepática respectivamente. Una baja actividad no tiene significado conocido. El incremento de la actividad es proporcional al número de células dañadas y no al grado de lesión; ligeros aumentos son poco importantes, ya que una de las funciones del hígado es la detoxificación, no es infrecuente que sufra un ligero grado de lesión. En un episodio como la necrosis hepática extensa (hepatitis infecciosa canina o intoxicación por tetracloruro de carbono) la actividad de ALT aumenta rápidamente después de 3 o 4 días y declina a lo normal de 10 a 14 días. La actividad plasmática puede permanecer elevada algunos días, a pesar de que el daño se esté reparado. Parece probable que el aumento de producción celular durante la regeneración sea el responsable de la regeneración continua. Un daño persistente provoca una elevación persistente (neoplasia, hepatitis crónica) (Bush, 1999).

La principal utilidad clínica de esta enzima es detectar lesiones hepatocelulares, aunque la distribución de la enzima en otros tejidos puede presentar un reto diagnóstico. La actividad enzimática en el músculo esquelético es de un aproximado 5% y en músculo cardíaco de un 25% menor en comparación con los hepatocitos (Lassen, 2004).

El aumento de la actividad sérica de esta enzima se asocia con alteraciones de la permeabilidad de la membrana hepatocelular, con causas potenciales que incluyen agresión tóxica, enfermedad inflamatoria, hipoxia, traumatismo de los tejidos y neoplasia. Mientras que el aumento asociado con corticosteroides o terapia de

fenobarbital puede ser multifactorial debido al aumento de la síntesis de la enzima y el daño celular (Meyer y Harvey, 2000).

En lesiones masivas, como hipoxia celular, se observa mayor incremento de actividad enzimática que en una lesión solitaria, como absceso o tumor localizado. El aumento de estas enzimas también depende de la cantidad de parénquima hepático existente, pues, si es menor; el aumento puede ser ligero o moderado, aun en casos de necrosis. En la figura 5 se observa la fisiología normal y patológica de esta enzima (Núñez, 2005).



**Figura 5. Fisiología normal y patológica de la ALT**

Esquema del sitio de localización de la ALT, donde se observa su participación fisiológica y las situaciones por las que puede aumentar en sangre.

Un aumento de la actividad de esta enzima puede ocurrir en una lesión hepatocelular reversible o irreversible; en algunas anomalías puede haber ausencia de actividad enzimática como resultado de una disminución cuantitativa en los hepatocitos (cirrosis avanzada, derivación portosistémica con atrofia). Los trastornos inflamatorios o necrotizante se asocian a menudo con las más severas elevaciones de enzimas del suero, mientras que las elevaciones moderadas pueden ocurrir con

neoplasia hepática, enfermedad del tracto biliar (obstructiva o no obstructiva) y la cirrosis (Washbau y Day, 2013).

Una leve elevación de las enzimas en suero, es inespecífica y puede ocurrir en un amplio espectro de trastornos crónicos metabólicos, neoplásicos, vasculares e inflamatorios. También hay varios medicamentos que pueden elevar la actividad de la ALT sérica, sin la presencia de una enfermedad hepatocelular primaria significativa; en el cuadro 2 se presenta un resumen de las causas de incremento de ALT en sangre (Bain, 2011).

**Cuadro 2. Causas de incremento de ALT.**

Causas de incremento
Hepatitis infecciosa aguda, tóxica, activa crónica.
Traumatismo hepático grave.
Pancreatitis aguda
Colangitis linfocítica y lipidosis hepática idiopática.
Shock grave que produce hipoxia.
Neoplasia.
Amiloidosis hepática.
Proceso hepático secundario (efecto leve/moderado).
Shunt portosistémico (efecto leve, si lo hay)
Inducción por fármacos.
Miocarditis.
Fiebre (efecto leve)
Hemólisis, lipemia

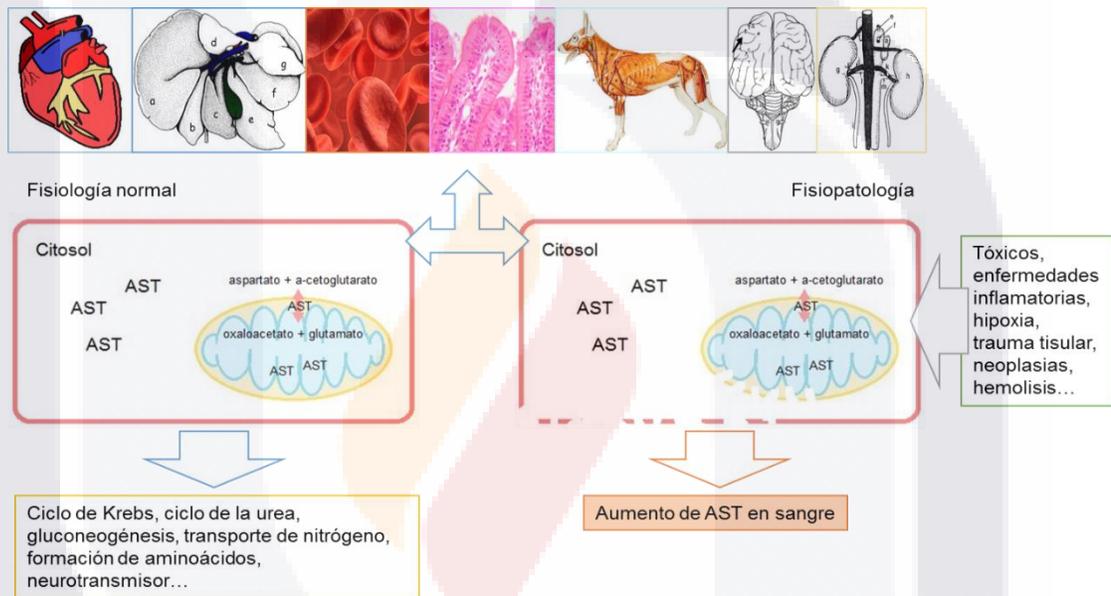
La vida media y la cantidad hepatocelular de la ALT es superior a la de AST, como se muestra en el cuadro 3. Esto influye en la interpretación, pues un aumento de ambas indica una degeneración o necrosis hepatocelular activa. Cuando la AST está dentro del rango muestra la presencia de un proceso inactivo; cuando la AST es superior a la ALT, señala un aumento de permeabilidad, degeneración o necrosis muscular (Núñez, 2005).

**Cuadro 3. Vida media de las enzimas hepáticas.**

Enzima	Localización	Vida media
AST	Citosol/mitocondria	20 a 36 horas
ALT	Citosol	40 a 60 horas
FAS	Microsomal/bordes de canalículos, epitelio biliar	72 horas
GGT	Microsomal/bordes de canalículos, epitelio biliar, páncreas	96 horas

### 1.2.2. Aspartato aminotransferasa (AST)

También conocida como glutamato oxalacético transaminasa (GOT). Se presenta en el citosol y también se une a las mitocondrias. No es histo específica por que también se localiza en grandes cantidades en el músculo esquelético, miocardio, eritrocitos y células de la mucosa intestinal. Se encuentra más en miocardio que en hígado. Se mantiene elevada durante un periodo extenso (2-3 días). Su actividad incrementa en hepatopatía. En la figura 6 se puede observar la fisiología normal y patológica de la AST (Anderson y Taibo,1999).



**Figura 6. Fisiología normal y patológica de la AST**

Esquema del sitio de localización de la AST, donde se observa su participación fisiológica a nivel mitocondrial y celular, además de las situaciones en las que aumenta en sangre.

Un aumento de la actividad de esta enzima indica un daño en la permeabilidad muscular o hepática. En el hígado hay dos isoenzimas de la AST, una en el citosol y la otra en las mitocondrias; su aumento sugiere una degeneración (isoenzima del citosol) o una necrosis hepatocelular (isoenzima mitocondrial). Es lamentable que no exista un kit comercial para la distinción entre estas isoenzimas (Núñez, 2005).

El daño de las células de cualquier órgano ya mencionado, causa liberación de las isoenzimas, que incrementa su actividad plasmática (cuadro 4). Una actividad baja no tiene ningún significado particular. El mayor problema de la AST es su falta

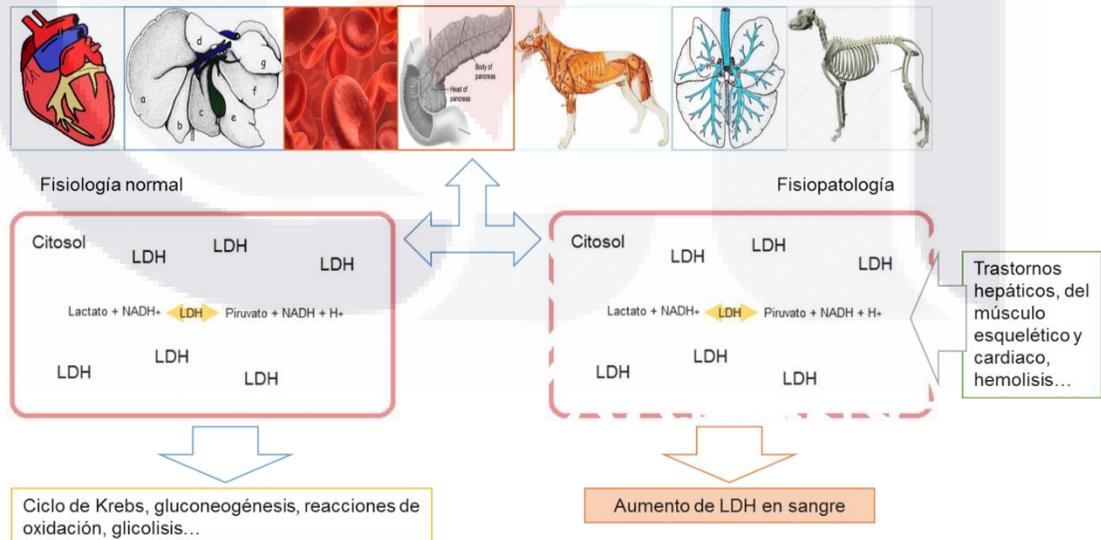
de especificidad, por ello, se deben efectuar otras determinaciones enzimáticas y otras pruebas para confirmar el diagnóstico presuntivo (Bush, 1999).

**Cuadro 4. Causas de incremento de AST.**

Causas de incremento
Daño hepático.
Daño en el músculo esquelético (miopatías inflamatorias, traumáticas, hereditarias o adquiridas, endocrinas, metabólicas, nutricionales, tromboembolismo aórtico, miastenia gravis, neoplasias).
Desordenes miocárdicos (isquemia cardíaca, traumatismos, necrosis, degeneración, neoplasias, congestión cardíaca).
Ejercicio intenso.
Hemólisis (error).
Fármacos (anticonvulsivos, estrógenos).

**1.2.3. Lactato deshidrogenasa (LDH)**

También conocida como lactato deshidrogenasa sérica (SLDH). Esta enzima comprende 5 isoenzimas, que aparecen en una amplia variedad de tejidos, en particular en el músculo esquelético, músculo cardíaco, hígado y eritrocitos; también en páncreas, hueso y pulmón. La LDH también es conocida como hidroxibutirato deshidrogenasa (HBD o HBDH). Aunque la LDH no separada no es órgano-específica, tiene la ventaja, para el diagnóstico de alteraciones musculares, de poseer una vida media más larga que la CK. En la figura 7 se puede observar la fisiología normal y patológica de la LDH.



**Figura 7. Fisiología normal y patológica de la LDH**

Esquema del sitio de localización de la LDH, donde se observa su participación fisiológica a nivel celular, además de las situaciones en las que puede aumentar en sangre.

La hemólisis distorsiona la precisión de los resultados porque la concentración de LDH en los eritrocitos es 150 veces superior a la del plasma (es posible que los eritrocitos sean el origen de la actividad plasmática “normal” de LDH, aunque parece más probable que derive del hígado. Aun así, dejar los eritrocitos en contacto con el suero o el plasma durante un periodo prolongado es poco deseable, debido a que la membrana eritrocitaria en estado de anoxia deja pasar la LDH; por ello es preferible separar la muestra. En el cuadro 5 se enlistan las principales causas relacionadas con el incremento de la actividad enzimática específica de LDH (Bush, 1999).

**Cuadro 5. Causas de incremento de LDH.**

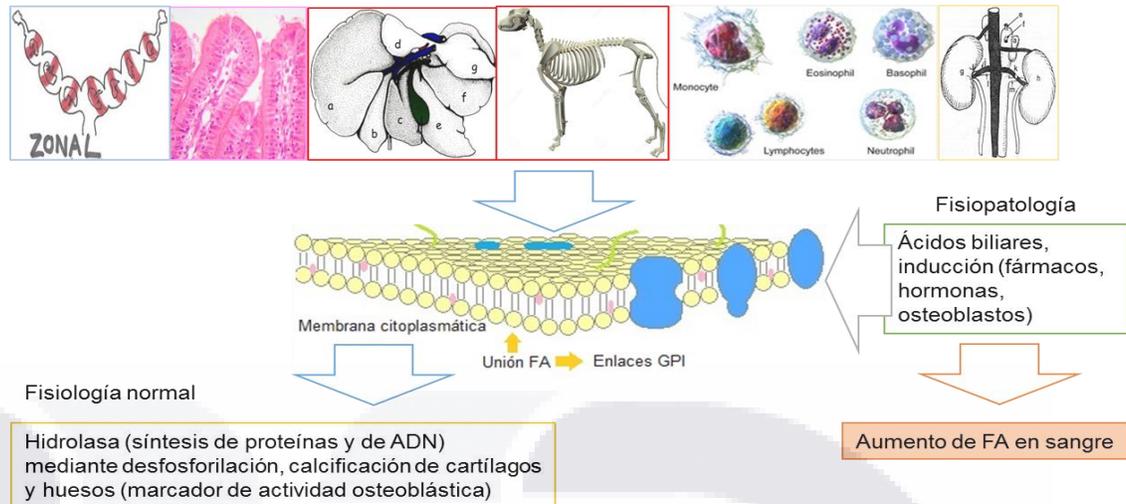
Causas de incremento
Trastornos del músculo esquelético
Trastornos del músculo cardíaco (cardiomiopatías: isquemia por endocarditis bacteriana, dirofilariosis, trombosis aórtica e infarto miocárdico, traumatismos, necrosis, degeneración y neoplasias).
Trastornos hepáticos (daño celular) y Hemólisis.

**1.2.4. Fosfatasa alcalina (FAS)**

La Fosfatasa alcalina (FAS) es una de las enzimas más empleadas como marcadores de la colestasis, esta enzima se encuentra en la membrana citoplasmática en el nivel de los canalículos biliares y en el epitelio biliar (Núñez, 2005).

La FAS tiene 7 isoenzimas: hepática, hepática inducida por cortico esteroides, ósea (osteoblastos), intestinal, renal, leucocitaria y placentaria. El incremento se debe a las isoenzimas que derivan del hígado y hueso, ya que su vida media es de 3 días, mientras que las otras tienen una vida media de solo 3 a 6 minutos y contribuyen poco a la actividad total. A diferencia de otras enzimas, el incremento de la actividad plasmática se debe más a la inducción (es decir, aumento en la síntesis) que al incremento en la liberación a partir de células dañadas. En la figura 8 se puede observar la fisiología normal y patológica de la FAS (Bush, 1999; Núñez, 2005).

La FAS aumenta en situaciones de colestasis, por la acción de barbitúricos o cortico esteroides. La isoenzima ósea muy pocas veces se encuentra elevada en animales adultos. Animales jóvenes en crecimiento tiene hiperactividad de FAS por incremento del metabolismo óseo; una vez finalizado éste, un aumento de la FAS se considera de origen colestásico o por inducción (Anderson y Taibo, 1999; Núñez, 2005).



**Figura 8. Fisiología normal y patológica de la FAS**

Esquema del sitio de localización de la FAS, donde se observa su participación fisiológica en la membrana citoplasmática, además de las causas por las que aumenta en sangre.

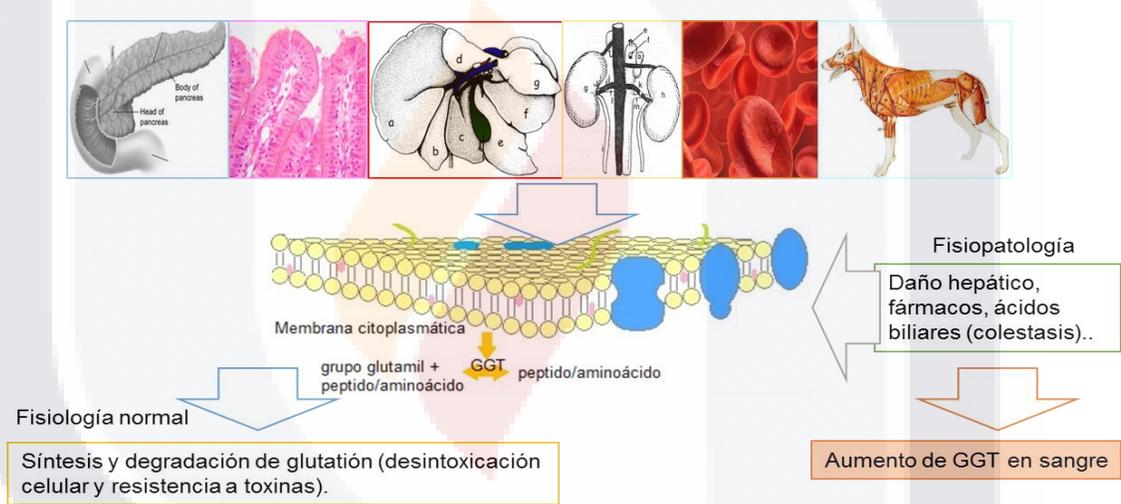
Las enfermedades gastrointestinales también cursan por un aumento. La electroforesis y la microscopia convencional demostró hiperactividad FAS en las superficies absortivas y secretorias de las células hepáticas. Dentro de los hepatocitos se une a las membranas y cuando los homogeneizados hepáticos son sometidos a centrifugación de alta velocidad, la actividad FAS sedimenta con las fracciones microsómicas y de la membrana plasmática. Aumenta en la circulación sanguínea en casos de hepatopatía. Concentraciones más elevadas son relacionadas con colangitis, cirrosis biliar y obstrucción ductal biliar extra hepática. Hidroliza la fosforilcolina a fin de liberar colina para la excreción biliar. En el cuadro 6 se enlistan las principales causas relacionadas con el incremento de la actividad enzimática específica de FAS (Anderson y Taibo, 1999).

**Cuadro 6. Causas de incremento de FAS.**

Causas de incremento
Obstrucción biliar (colestasis), intra o extrahepática.
Daño hepático.
Inducido por esteroides y fármacos no esteroideos.
Hiperadrenocorticismo.
Animales en crecimiento.
Enfermedad ósea extensa o generalizada: hiperparatiroidismo, etc.
Otros desordenes endocrinos.
Neoplasia.
Septicemia/endotoxemia.
Inanición. Regeneración hepática.
Gestación. Entrenamiento. Dieta de prescripción s/d (Hill's).

### 1.2.5. Gamma glutamil transferasa (GGT)

También conocida como gama- glutamiltranspeptidasa, es una carboxipeptidasa asociada con el metabolismo del glutatión reducido, se encuentra ligada a la membrana, por ende no aumenta con tanta facilidad en el daño hepático agudo. La GGT además de estar presente en la membrana citoplasmática, en los canalículos biliares y en el epitelio biliar, también se encuentra en el páncreas, en el intestino y en el riñón (células del túbulo renal proximal específicas del borde cepillo). Los eritrocitos y el músculo esquelético presentan niveles muy bajos de GGT. El tiempo de vida media es de 3 a 4 días. Los esteroides y anticonvulsivos causan elevación de GGT. En la figura 9 se puede observar la fisiología normal y patológica de la GGT (Anderson y Taibo, 1999; Núñez, 2005).



**Figura 9. Fisiología normal y patológica de la GGT**

Esquema del sitio de localización de la GGT, donde se observa su participación fisiológica en la membrana citoplasmática, además de las causas por las que puede aumentar en sangre.

Es importante conocer la vida media de las enzimas, porque indican si la lesión o la necrosis hepática es aun activa o no. Las enzimas mitocondriales regresan más rápido a los valores de referencia cuando se inactiva la necrosis; además su vida media es inferior a la de las enzimas del citosol (cuadro 3).

Para distinguir enfermedades del tracto biliar de enfermedades hepatocelulares se usa la razón GGT/ALT; si esta se eleva se trata de las primeras. La actividad rara vez aumenta en trastornos renales, porque la enzima se excreta a través de la orina. En

el cuadro 7 se observan las diferentes causas de incremento de GGT en sangre (Bush, 1999).

Además, la GGT del riñón no se detecta en sangre, sino en la orina, en la que se emplea como un indicador de daño tubular renal en forma incipiente. Cuando la GGT sérica se determina en forma conjunta con la FAS y con la ALT, se mejora el valor diagnóstico del examen. Cualquier incremento en la actividad de la GGT debido a glucocorticoides es mucho menor que en la actividad de la FAS (Núñez, 2005).

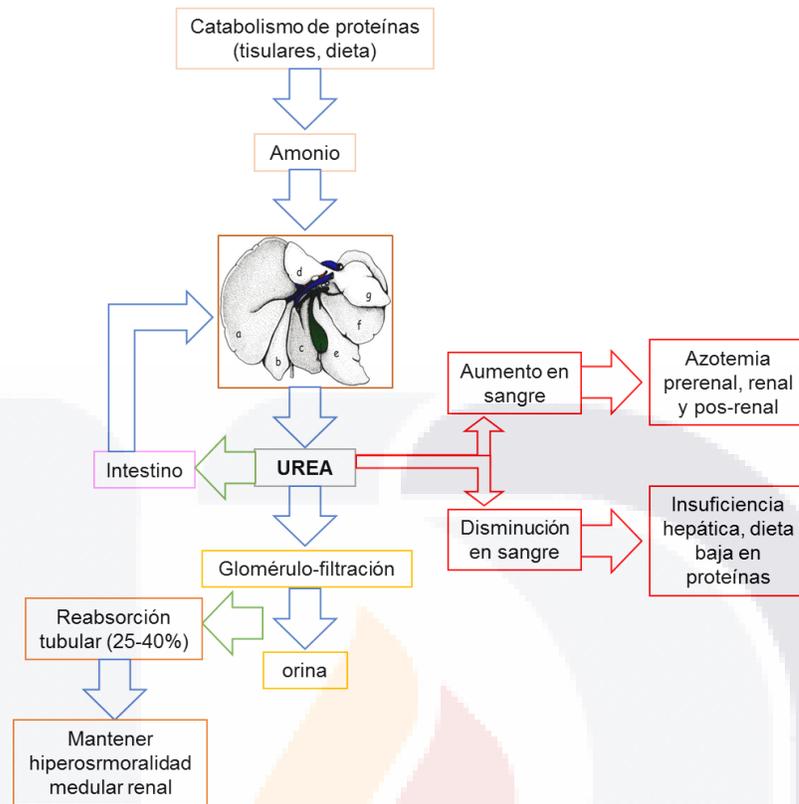
**Cuadro 7. Causas de incremento de GGT.**

Causas de incremento
Daño hepático (neoplasias).
Obstrucción biliar (colestasis).
Glucocorticoides.
Anticonvulsivos (fenobarbital y primidona)

**1.2.6. Urea**

La urea se sintetiza en el hígado a partir del amonio, que en su mayoría proviene de la degradación (catabolismo) de los aminoácidos derivados de las proteínas tisulares o de las proteínas de la dieta. Una parte de la urea se absorbe en el intestino, donde se forma por la acción de las bacterias sobre los aminoácidos de la dieta y sobre a urea endógena recirculada y se transporta hasta el hígado. En la figura 10 se puede observar la fisiología normal y patológica de la urea (Bush, 1999).

La urea puede encontrarse disminuida en animales alimentados con dietas muy bajas en proteínas, en casos de insuficiencia hepática grave o “shunts porto sistémicos” o tras tratamientos con esteroides anabolizantes (Heine y Lefebvre, 2007). Además, cuando el metabolismo de la urea se altera por una insuficiencia hepática, disminuye la concentración de urea en el organismo. Una hipoperfusión renal, o una insuficiencia renal, pueden desenmascarar esta situación por la disminución en su eliminación. Por ende, cualquier causa de poliuria/polidipsia o una anorexia prolongada ocasionan una reducción de la urea (Núñez, 2005).



**Figura 10. Fisiología normal y patológica de la urea**

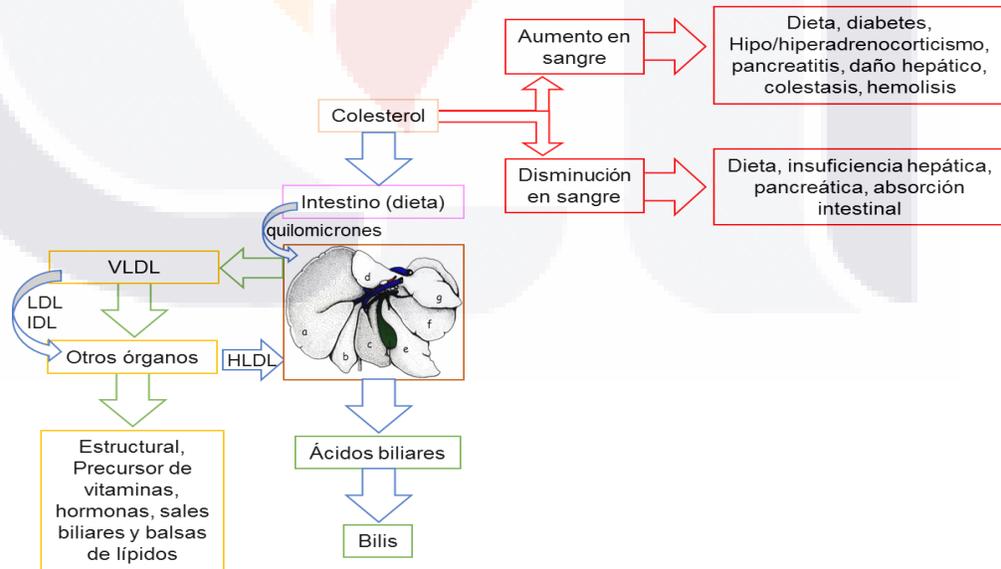
Esquema del metabolismo de la urea y algunas causas que pueden incrementar o disminuir su concentración en sangre.

### 1.2.7. Colesterol

El colesterol es un tipo específico de lípido que debe ser sintetizado o absorbido por el intestino procedente de la dieta. Dicha síntesis se lleva a cabo en todos los tejidos del organismo en especial en el hígado, tracto digestivo y piel. No obstante, el hígado es el mayor lugar de síntesis, excreción y catabolismo del colesterol (Ettinger y Feldman, 2010) y aquí es transformado en ácidos biliares que se excretan sin cambios en la bilis; es también un componente de la membrana plasmática celular (Bush, 1999). Puesto que el colesterol no es soluble en agua, ha de ser transportado en sangre unido a proteínas para poder ser utilizado por otros órganos; a este complejo colesterol-proteína se le llama lipoproteína. Es así, en forma de lipoproteínas, como llega a los diferentes órganos, tales como corteza adrenal, ovarios y testículos, donde actúa como precursor de hormonas esteroidales (por ejemplo: hormonas sexuales y glucocorticoides) (Thrall y col., 2012).

El colesterol constituye el mayor componente de la membrana celular y es también precursor esencial de vitaminas. La mayoría del colesterol existente en el plasma, linfa, hígado y corteza adrenal, se encuentra en forma esterificada y aparece en el músculo como colesterol libre. El colesterol está formado por colesterol libre y esteres de colesterol que se miden en conjunto como colesterol total. Las formas libre y esterificada se mantienen en equilibrio por la acción de la enzima acetil-coenzima-A-colesterol-aciltransferasa (ACAT), que convierte el colesterol libre en esterificado. El colesterol circula por la sangre a través de lo que se conoce como circuito exógeno, utilizado por el colesterol procedente de la dieta hasta alcanzar el hígado englobado en los quilomicrones. Existe otro circuito, el endógeno, en continua circulación entre el hígado y los tejidos del organismo, que lo captan y lo devuelven a la sangre, gracias a este último, las células pueden captar el colesterol que necesitan (Bonagura y Twedt, 2013).

La determinación de los niveles plasmáticos de colesterol en medicina veterinaria es importante para constituir una herramienta de diagnóstico. Constituye el lípido que se determina con mayor frecuencia en los animales de compañía, puesto que la hipercolesterolemia aparece como causa secundaria a otras enfermedades, principalmente de carácter endocrino. En la figura 11 se puede observar la fisiología normal y patológica del colesterol (Thrall y col., 2012).



**Figura 11. Fisiología normal y patológica del colesterol**

Esquema del metabolismo del colesterol y algunas causas que pueden incrementar o disminuir su concentración en sangre.

Cualquier hepatopatía suele cursar con hipocolesterolemia. En el perro, los síndromes de mala digestión o malabsorción se acompañan también de hipocolesterolemia. Dado que la tiroides interviene en el control del metabolismo del colesterol, el hipotiroidismo aumenta el colesterol en suero sanguíneo. Estos aumentos también se dan en obstrucciones biliares, diabetes mellitus, hipoadrenocorticismo y la gestación (Kraft y col., 1998).

La obesidad en los perros es una patología que puede tener una incidencia del 20-40%, en casi todos los países y se define como un estado de sobrepeso, que cursa con aumento del colesterol y de los triglicéridos, lo que desencadena alteraciones del sistema cardiovascular. A pesar de que puede ocurrir en cualquier perro, existen factores de riesgo como la raza (labrador, cocker spaniel, dachshunds, beagle, shetland sheepdog, rottweiler y basset haund), la edad y el sexo, es más frecuente en hembras jóvenes y en individuos de edad superior a los 12 años (Gossellin y col., 2007; Pasquini y col., 2008). A continuación en el cuadro 8 se muestran las causas de aumento y disminución de colesterol en sangre.

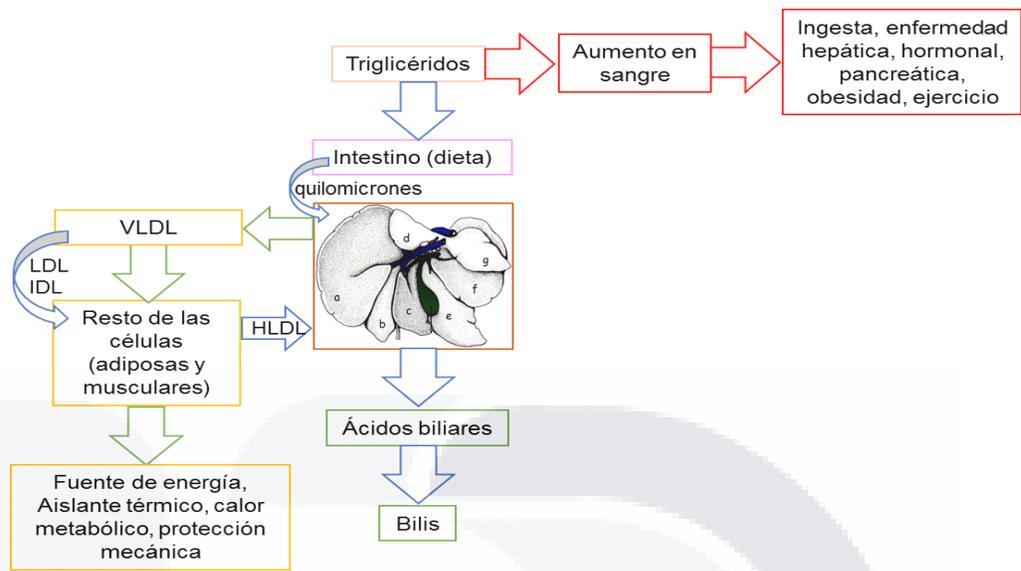
**Cuadro 8. Causas de disminución e incremento del colesterol.**

Causas de disminución	Causas de incremento
Insuficiencia hepática (adquirida o congénita). Terapia anticonvulsivante. Dietas pobres en grasas. Mala absorción intestinal e insuficiencia pancreática exocrina. Hiperadrenocorticismo (ocasionalmente). Enteropatía por pérdida de proteínas. Error: Niveles altos de vitamina C.	Posterior a ingesta de grasa. Dietas ricas en grasa. Hipotiroidismo, diabetes mellitus, pancreatitis aguda, hiperadrenocorticismo y administración de esteroides. Traumatismo grave. Inanición (si hay obesidad grave). Daño hepático primario. Obstrucción del tracto biliar. Pérdida renal de proteína (síndrome nefrótico). Esteatitis. Enfermedades renales familiares (caniche y doberman pinscher). Hiperlipidemias idiopáticas. Error: hemólisis, fenitoína.

### 1.2.8. Triglicéridos

Los lípidos son componentes químicos del plasma sanguíneo que se distinguen por ser insolubles en agua y solubles en los disolventes orgánicos (Kraft y *col.*, 1998). La fuente principal de colesterol y de triglicéridos procede de la dieta, aunque en ocasiones estos pueden ser sintetizados por el hígado y otros tejidos (Bonagura y *col.*, 2001).

Los triglicéridos son la forma más común de almacenamiento de lípidos en el tejido adiposo y la mayor fuente de energía. Cada molécula de triglicéridos está formada por 3 moléculas de ácidos grasos unidas a una molécula de glicerol, de ahí su nombre. Estos se sintetizan en la mucosa intestinal a partir de los componentes lipídicos de la dieta y pasan a la digestión y absorción de grasas. Los triglicéridos sintetizados en las células de la mucosa intestinal, se forman a partir de los triglicéridos de cadena larga de la dieta y se transportan en la linfa intestinal (quilo) y, después, en la sangre como quilomicrones. Estas partículas grasas están formadas en su totalidad por triglicéridos (80-95%) y pequeñas cantidades de colesterol, fosfolípidos y una proteína plasmática que confiere solubilidad al lípido (Bush, 1999). Los quilomicrones son partículas grandes que transportan grasas del intestino hacia la circulación por medio de los vasos linfáticos; en tejido adiposo y muscular son expuestos a lipoproteinlipasa para ser hidrolizados a ácidos grasos. Su persistencia se denomina hiperquilomicronemia, misma que produce turbidez en el plasma (lipemia) esto indica que hay un incremento en el componente de los triglicéridos, ya que el colesterol no produce turbidez. Los triglicéridos formados en el hígado, se transportan en la sangre en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) denominadas triglicéridos endógenos. Al separarse los triglicéridos de las VLDL, estas se hacen pequeñas y se unen al colesterol y a los fosfolípidos, dando origen a lipoproteínas de baja densidad (LDL), que abastecen a las membranas celulares de tejidos periféricos. Mientras tanto, las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se forman en el hígado y el intestino y están constituidas por colesterol y fosfolípidos (Bouda y Núñez, 2007). En la figura 12 se puede observar la fisiología normal y patológica de los triglicéridos.



**Figura 12. Fisiología normal y patológica de triglicéridos**

Esquema del metabolismo de triglicéridos y algunas causas que pueden incrementar su concentración en sangre.

Los quilomicrones aparecen en la sangre después de ingerir alimentos ricos en grasas, pero desaparecen en 12 horas. La precisión de muchos análisis bioquímicos sanguíneos disminuye si se realizan con muestras lipémicas, por lo que es preferible tomar muestras de sangre de animales en ayuno de 8 a 12 horas (Bush, 1999). A continuación en la cuadro 9 se muestran las causas de aumento triglicéridos en sangre.

**Cuadro 9. Causas de incremento de triglicéridos.**

Causas de incremento
Posterior a la ingesta (común).
Diabetes mellitus.
Hipotiroidismo.
Pancreatitis aguda.
Hiperadrenocorticismismo.
Colestasis transitoria.
Inanición (en obesidad).
Síndrome nefrótico.
Hiperlipoproteinemia idiopática (rara).
Hiperquilomicronemia (rara).
Error: ejercicio.

### 1.2.9. Glucosa

El hígado ayuda al mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, por ser una fuente de energía durante el ayuno, mediante la utilización del glicerol; los aminoácidos

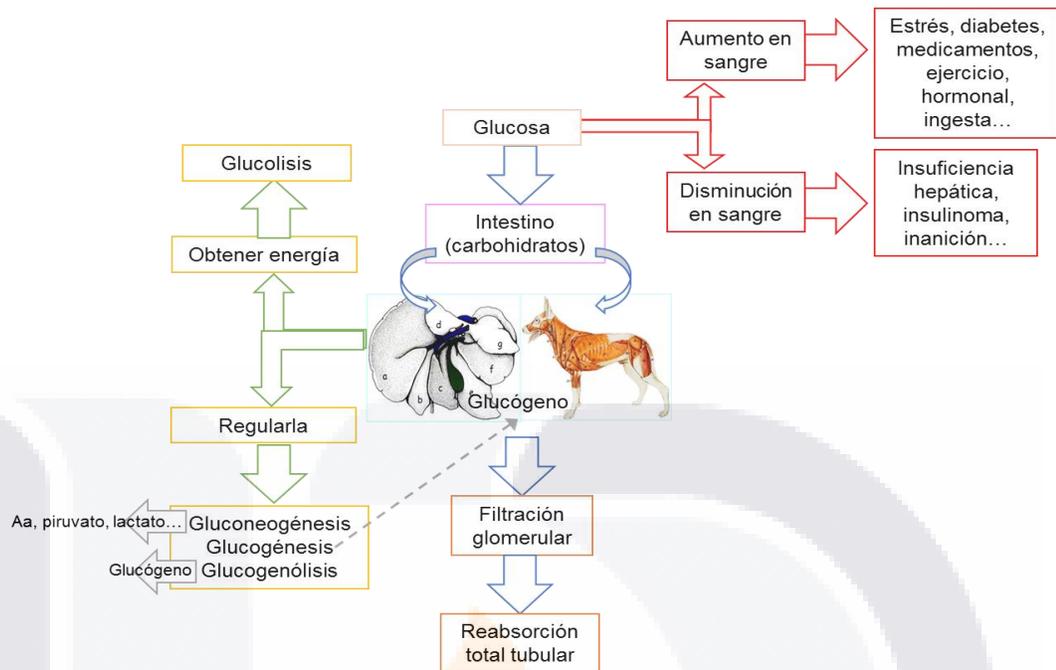
gluconeogénicos, como la alanina y del lactato, son sustratos para la gluconeogénesis (Núñez, 2005).

La glucosa es un hidrato de carbono que constituye la principal fuente energética del organismo. La glucemia varía según el momento del día y en relación con la alimentación y el ayuno, aunque siempre se mantiene dentro de un estrecho margen en condiciones de salud (Willard y Tvedten, 2012).

Después de la ingesta, la mayor parte de la glucosa presente en la sangre se absorbe en el intestino delgado (como producto final de la digestión de los carbohidratos) y es almacenado como glicógeno en el hígado y músculos. Algunas veces la glucosa se libera de los tejidos para mantener una concentración plasmática suficiente (Kraft y *col.*, 1998; Bush, 1999).

Los análisis de glucosa en sangre se realizan ante todo por la sospecha de alteraciones en el metabolismo de los glúcidos, el monitoreo de pacientes diabéticos y para confirmar las hipoglucemias de los recién nacidos. Entre los factores que favorecen el desarrollo de hiperglucemia están el síndrome de Cushing, pancreatitis, diabetes mellitus, obesidad, hipertrigliceridemia, estrés, excitación, convulsiones, ejercicios (transitorio), hiperadrenocorticismos, alimentación reciente rica en carbohidratos así como el tratamiento con propofol, infusiones glucosadas, morfina, estriquina, ACTH, xilazina o glucocorticoides. Una hipoglucemia puede presentarse debido a una aplicación excesiva de insulina, malabsorción, maladigestión, eclampsia, acetonemia (cetosis) o insulinoma, hipoglucemia funcional, enfermedad por almacenamiento de glicógeno, hipoadrenocorticismos, hipotiroidismo, hipopituitarismo, insuficiencia hepática marcada, malnutrición (Boord y *col.*, 2001).

Toda la glucosa plasmática se filtra de la sangre a través de los glomérulos renales y se reabsorbe de forma íntegra en los túbulos. Solo cuando se presenta un exceso en el filtrado glomerular que provoca que no se alcance la reabsorción completa (es decir, cuando se excede el nivel renal), la glucosa aparece en la orina (glucosuria). Existen individuos con un umbral renal bajo para la glucosa, en los que la glucosuria se produce en ausencia de hiperglicemia. El nivel de glucosa en el plasma se alcanza por la secreción de glucagón (aumenta el nivel de glucosa) y de insulina (o disminuye). En la figura 13 se puede observar la fisiología normal y patológica de la glucosa (Kraft y *col.*, 1998; Bush, 1999).



**Figura 13. Fisiología normal y patológica de la glucosa**

Esquema del metabolismo de glucosa y algunas causas que pueden incrementar o disminuir su concentración en sangre.

En el cuadro 10 se describen las principales causas de aumento y disminución de glucosa en sangre.

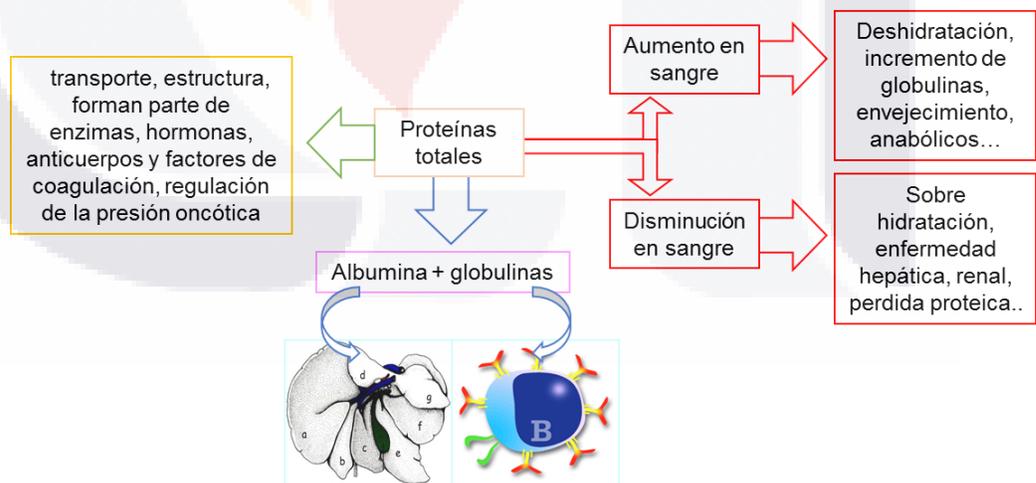
**Cuadro 10. Causas de disminución e incremento de la glucosa.**

Causas de disminución	Causas de incremento
Hiperinsulinismo: sobredosis de insulina, tumor secretor de insulina en páncreas (insulinoma), tumor secretor de insulina en tejido no pancreático. Hipoadrenocorticismo: primario (Addison), secundario (deficiencia de ACTH). Disfunción hepática: congénito (shunts), desordenes adquiridos, enfermedades de almacenamiento de glicógeno. Hipoglicemia del cachorro y cetónica de la gestación. Sepsis grave, neoplasia, inanición crónica. Incremento de células sanguíneas en eritrocitos o leucocitos. Malabsorción crónica. Error: fallo en la inhibición de enzimas glicolíticas.	Miedo, excitación, estrés. Traumatismo grave. Después de una comida. Diabetes mellitus. Fase diéstrica del ciclo estral (perra). Otros procesos de resistencia a insulina: hiperadrenocorticismo, acromegalia, hipertiroidismo, obesidad, feocromocitoma. Hormonas que pueden inducir diabetes mellitus. Otros fármacos. Convulsiones, ejercicio extremo. Sobredosificación grave de insulina. Síndrome urológico felino. Enfermedades familiares renales (raro). Enfermedad de Addison (raro). Error: inyección de dextrosa (u otro carbohidrato), lipemia, hemólisis, metronidazol.

**1.2.10. Proteínas totales**

La variación en la concentración de las proteínas totales (hiper e hipoproteinemias) puede ser absoluta (aumento o disminución de su síntesis, pérdida de proteínas) o relativa (hemoconcentración o hemodilución). Las proteínas totales del suero son igual a la suma de albúminas más globulinas; mientras que las proteínas totales del plasma se refieren a la suma de albúminas más globulinas y fibrinógeno (Núñez, 2005).

Las proteínas actúan como elementos de transporte, estructurales, forman parte de enzimas, hormonas, anticuerpos, factores de coagulación, e intervienen en la regulación de la presión oncótica. La albúmina y gran parte de las globulinas son producidas en el hígado y en el sistema retículo endotelial se produce una pequeña parte de gammaglobulinas. Las variaciones en el nivel de proteínas plasmáticas no son indicadores de una patología específica sino que nos indican alteración de los tejidos responsables del balance entre la síntesis y catabolismo, o pérdida mecánica. Para interpretar de forma correcta estas alteraciones deben ser evaluadas ambas fracciones proteicas ya que una disminución en una fracción puede estar enmascarada con un aumento en la otra. En la figura 14 se puede observar la fisiología normal y patológica de las proteínas totales (Willard y Tvedten, 2012).



**Figura 14. Fisiología normal y patológica de las proteínas totales**

Esquema de la síntesis y funciones de las proteínas totales, también se observan algunas causas que pueden incrementar o disminuir su concentración en sangre.

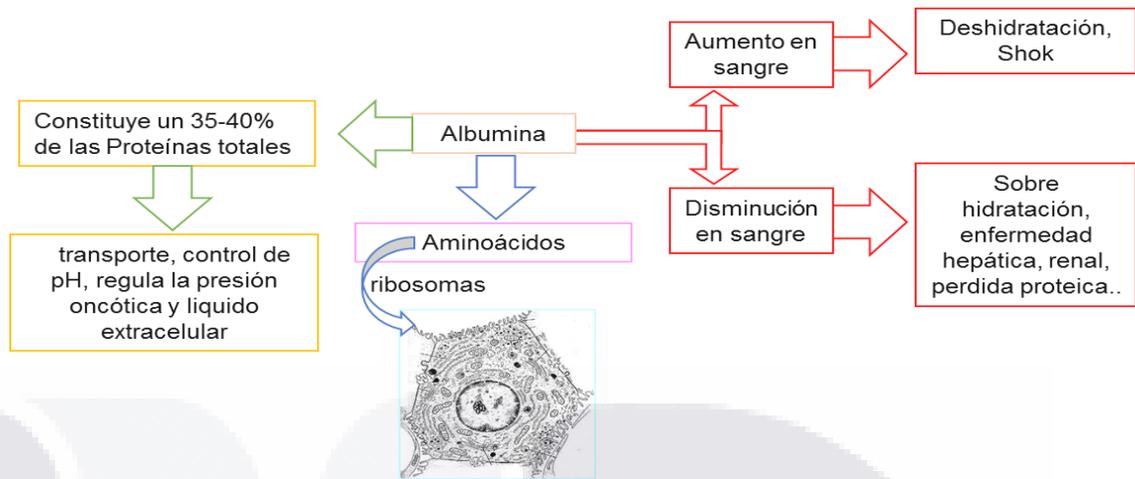
Mientras que en el cuadro 11 se pueden observar las situaciones en las que estas proteínas pueden tener variaciones en la sangre, al aumentar y disminuir.

**Cuadro 11. Causas de disminución e incremento de las proteínas totales.**

Causas de disminución	Causas de incremento
Disminución relativa, sobre hidratación y errores. Edad, animales jóvenes. Disminución de la síntesis proteica: inanición proteica, malabsorción del intestino delgado, procesos hepáticos, insuficiencia cardiaca congestiva, mala digestión. Hepatopatía crónica. Incremento de la pérdida proteica: en orina, por intestino, por quemaduras, hemorragia, sepsis y bacteriemia. Enfermedad renal con proteinuria crónica.	Deshidratación. Incremento de los niveles de globulinas: Inflamación aguda, subaguda y crónica, enfermedad hepática, neoplasia, enfermedades víricas y por rickettsias, infecciones fúngicas y protozoarias, trastornos autoinmunes, animales neonatos, piodermas, enfermedades glomerulares primarias, hemólisis, respuesta a antígenos. Envejecimiento. Esteroides anabólicos. Nivel incrementado de fibrinógeno. Error: hemólisis y lipemia (con refractometría).

### 1.2.11. Albúmina

La albúmina representa alrededor de un 35 y 40% de las proteínas totales. Sintetizada por el hepatocito a partir de aminoácidos, su vida media es de 20 días aproximadamente. El 80% de la presión oncótica se atribuye a la albúmina, es la principal responsable de los movimientos acuosos entre el medio intravascular y el medio intersticial. Es la principal forma de almacenamiento de proteínas y la fuente de aminoácidos de los tejidos. Además, garantiza el transporte de diversas sustancias como: bilirrubina, ácidos grasos, medicamentos (fenilbutazona, fenitoína y otros) y hormonas. El calcio también se transporta unidos a la albúmina, por lo que una hipoalbuminemia puede producir hipocalcemia. La albúmina tiene un peso molecular inferior al de otras proteínas plasmáticas y existe intercambio frecuente de albúmina entre el plasma y el líquido intersticial, que retorna desde éste a la sangre por vía linfática. En la figura 15 se puede observar la fisiología normal y patológica de las proteínas totales (Bouda y Núñez, 2007).



**Figura 15. Fisiología normal y patológica de la albúmina**

Esquema de la síntesis y funciones de la albúmina, también se observan algunas causas que pueden incrementar o disminuir su concentración en sangre.

En el cuadro 12 se resumen las causas de disminución e incremento de albúmina en sangre.

**Cuadro 12. Causas de disminución e incremento de la albúmina.**

Causas de disminución	Causas de incremento
Disminución relativa, sobre hidratación y error. Disminución de la síntesis proteica: Inanición proteica, malabsorción del intestino delgado, procesos hepáticos, traumatismo grave, insuficiencia cardíaca congestiva, enanismo hipofisario, terapia con primidona. Incremento de las pérdidas proteicas: En orina, del intestino, de quemaduras y hemorragia, sepsis bacteriemia. Dieta. Error: interferencia con el método de medición (método BCG).	Deshidratación. Shock.

**1.2.12. Bilirrubina**

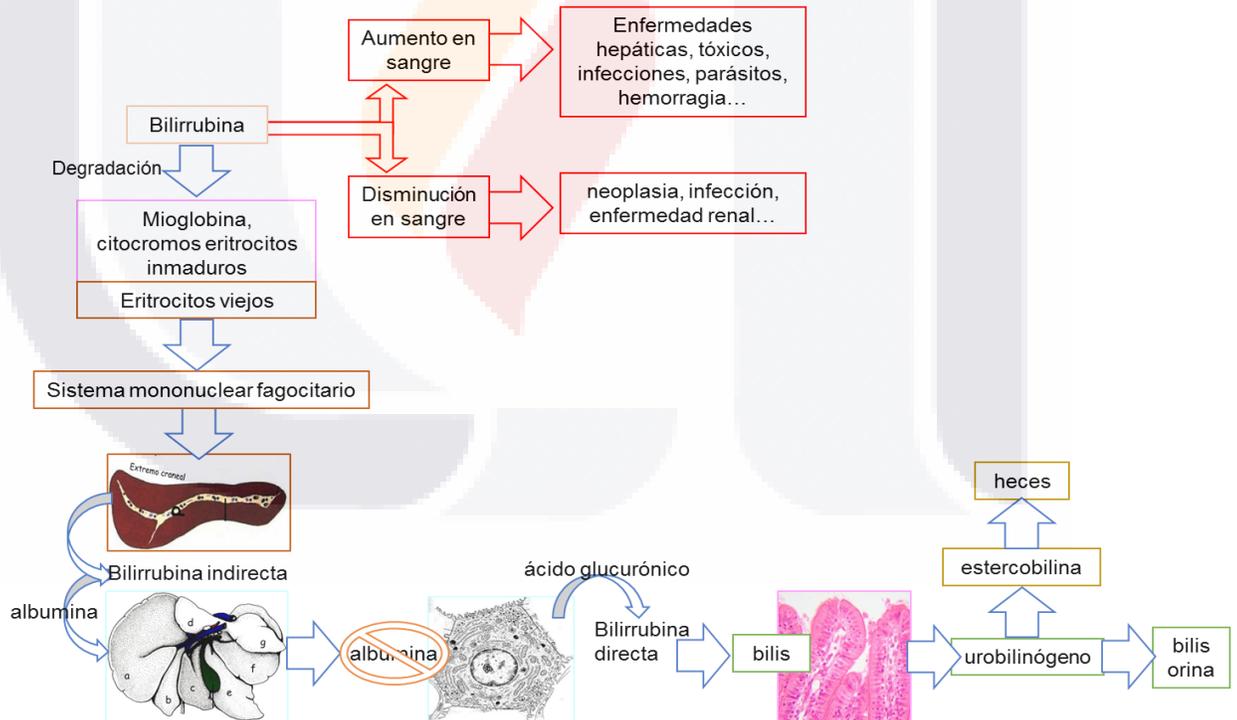
La bilirrubina procede de la degradación de los eritrocitos viejos por parte del sistema mononuclear fagocitario, especialmente en el bazo. La bilirrubina restante proviene de la degradación de la mioglobina, de los citocromos y de los eritrocitos inmaduros en la médula ósea. Esta bilirrubina, no soluble en agua (indirecta), se acopla con la albúmina plasmática (seroalbúmina) y es transportada hasta el hígado. Aquí la bilirrubina indirecta se deshace de la unión de la albúmina y en los hepatocitos la bilirrubina se conjuga con el ácido glucurónico, transformándose en bilirrubina hidrosoluble (directa), para ser excretada con la bilis al intestino.

A continuación se enlistan los tipos de bilirrubinas:

1. **Bilirrubina I:** insoluble en agua, libre, no conjugada o indirecta.
2. **Bilirrubina II:** hidrosoluble, conjugada o directa.
3. **Bilirrubina total:** Bilirrubina directa más indirecta

La bilirrubina indirecta es soluble en lípidos y no se filtra a través de los glomérulos renales, de manera normal no se excreta por la orina. La bilirrubina directa es soluble en agua y se secreta por los canalículos biliares menores y más tarde se excreta por la bilis (Bush, 1999).

En el plasma existen cantidades bajas de bilirrubina directa; en animales sanos la mayor parte de la bilirrubina en plasma es indirecta. La directa no puede reabsorberse en el intestino, pero en el íleon y colon las enzimas bacterianas la convierten en urobilinógeno incoloro, reabsorbiéndose como tal en un 10-15% en la circulación portal hasta el hígado. La mayoría de este urobilinógeno se reexcreta en la bilis aunque una parte se excreta por orina. En la figura 16 se puede observar la fisiología normal y patológica de la bilirrubina.



**Figura 16. Fisiología normal y patológica de la bilirrubina**

Esquema de la síntesis y eliminación de la bilirrubina, también se observan algunas causas que pueden incrementar o disminuir su concentración en sangre.

El urobilinógeno restante se oxida a estercobilina que da a las heces su característica en color marrón. Los incrementos de bilirrubina pueden ser atribuidos a diversas causas; algunas de ellas se resumen en el cuadro 13.

Un aumento de la tasa de bilirrubina en suero (ictericia) tiene lugar en:

- a) Incremento de la producción de bilirrubina: ictericia hemolítica o prehepática.
- b) Dificultad en la captación, conjugación o eliminación de la bilirrubina por el hígado: ictericia hepatocelular (intrahepática u obstructiva (posthepática).
- c) En perros el aumento de la bilirrubina directa solo se aprecia en presencia de una insuficiencia renal concomitante (Kraft y col., 1998).

**Cuadro 13. Causas de disminución e incremento de la bilirrubina.**

Causas de disminución	Causas de incremento
<p><b>Anemia hipoproliferativa atribuible a:</b>                      Infección e inflamación crónica, neoplasia maligna, última fase de la enfermedad renal.</p>	<p><b>Bilirrubina indirecta:</b>                      Hemólisis aguda grave, absorción de un gran hematoma o hemorragia interna masiva, transfusión de eritrocitos almacenados.</p> <p><b>Aumento al mismo nivel de bilirrubina directa e indirecta:</b>                      Obstrucción del flujo biliar, consiguiente a una hemólisis intravascular aguda grave (o hematoma profuso o hemorragia interna masiva).</p> <p><b>Bilirrubina directa:</b>                      Daño toxico (venenos, fármacos), enfermedades infecciosas, parásitos, dístomas, traumatismo grave, procesos hepáticos, hepatitis crónica activa, desordenes mieloproliferativos, daño hepático secundario.</p> <p><b>Obstrucción del tracto biliar:</b> presión de los hepatocitos inflamados, lesiones que ocupan espacio (tumores, abscesos), deposición de tejido anormal en hígado, hepatitis piogranulomatosa, obstrucción del conducto biliar, inflamación del tracto biliar, insuficiencia cardiaca derecha, enfermedad quística congénita.</p> <p>Rotura del árbol biliar.</p>

### **1.3. FISIOLÓGÍA DE LOS INDICADORES DE DAÑO RENAL EVALUADOS EN BIOQUÍMICA SANGUÍNEA**

El riñón es un órgano de gran importancia, con diversas responsabilidades en el mantenimiento de la homeostasia. Los riñones reciben alrededor del 25% del gasto cardiaco y filtran la sangre para eliminar los desechos metabólicos y recuperar las sustancias esenciales para el organismo, entre las que se incluyen agua, proteínas de bajo peso molecular y diferentes electrolitos. Son capaces de reconocer las situaciones de déficit o exceso de agua o electrolitos y responden mediante la modificación de sus índices de reabsorción o secreción (Cunningham y Klein, 2013).

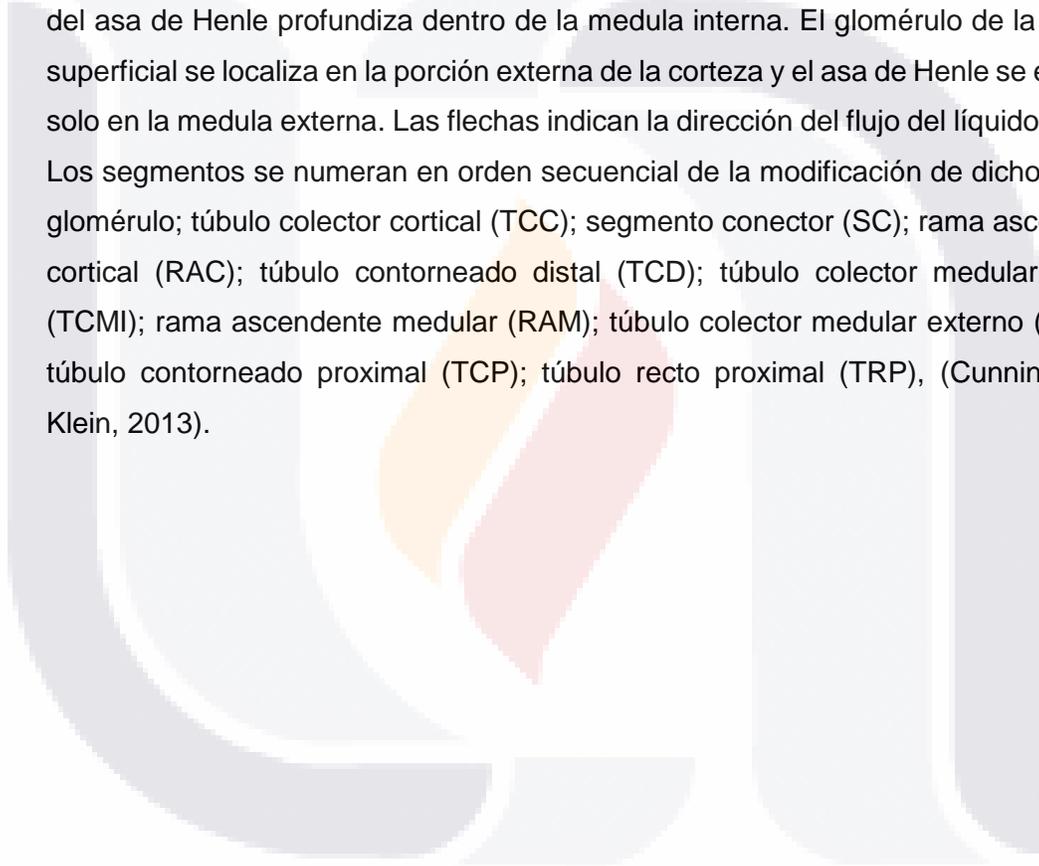
Existen diversas pruebas de laboratorio para evaluar la función renal, pero no todas se utilizan de manera habitual por falta de sensibilidad, excesiva variabilidad biológica, costes muy elevados, o porque los requerimientos técnicos necesarios para su realización son muy complejos. En cualquier caso, es posible que exista una lesión sin que se detecten alteraciones en los parámetros de laboratorio de función renal y, viceversa, es posible que se produzca una reducción de la filtración glomerular sin que haya una lesión renal aparente. La bioquímica sanguínea en nefrología se utiliza para diagnosticar y controlar la disfunción renal o daño; esto es de especial importancia en la medicina veterinaria para la detección temprana de la insuficiencia renal crónica en perros (Cortadellas, 2010).

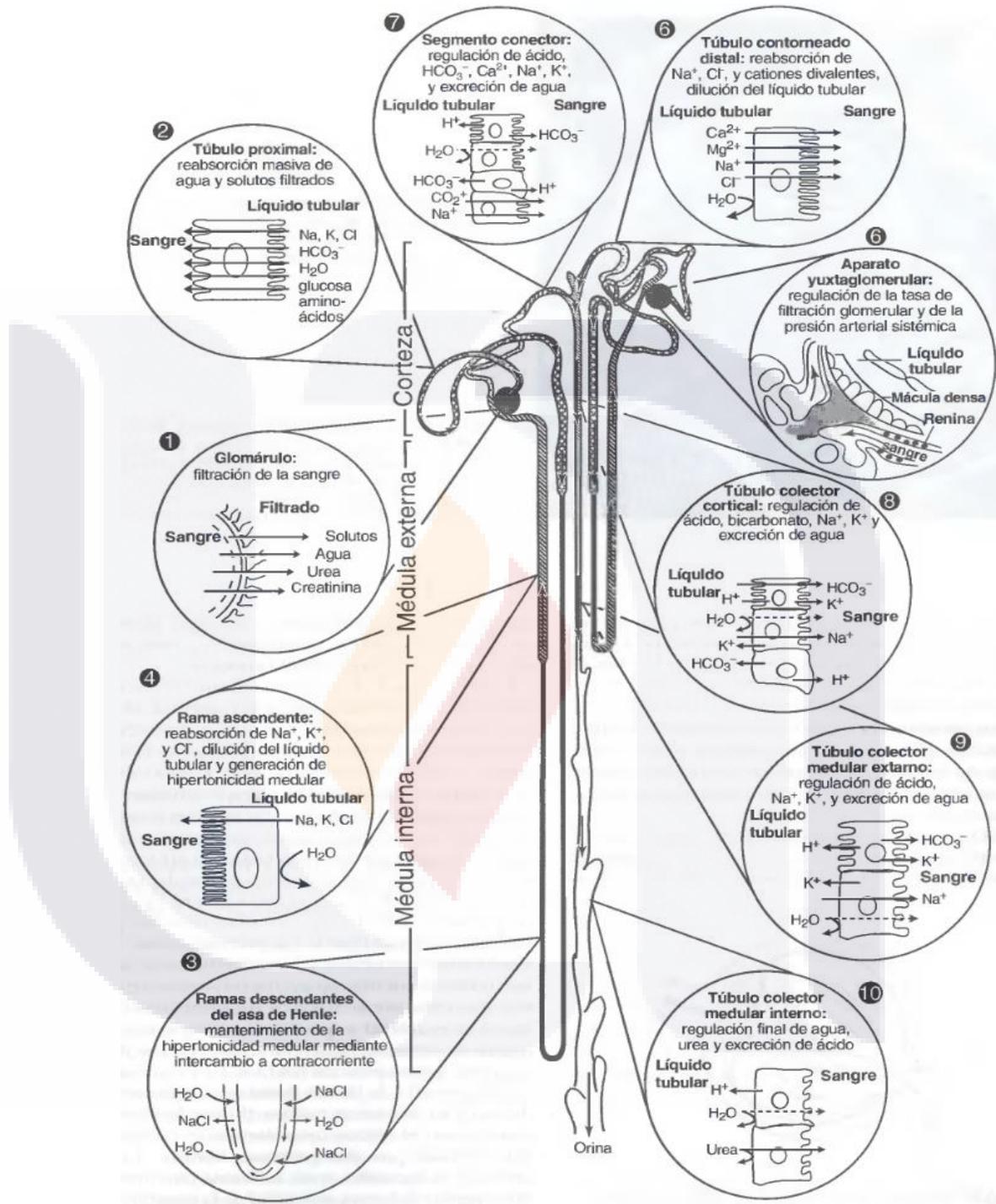
Además, el riñón también tiene una función vital para el mantenimiento del equilibrio ácido básico además de producir hormonas para el control de la presión arterial sistémica y en la producción de glóbulos rojos. La unidad funcional del riñón, denominada nefrona, está formada por el glomérulo, donde se filtra la sangre y varios segmentos del túbulo renal, donde se produce la reabsorción de sustancias filtradas y la secreción al líquido tubular de componentes plasmáticos (Cunningham y Klein, 2013).

El riñón de los mamíferos consta de decenas de miles de millones de nefronas que funcionan como unidades paralelas; cuanto mayor sea la especie, mayor es el número de nefronas del riñón (Braun y Lefebvre, 2008). La evaluación de la función renal es fundamental para evaluar el estado de salud general de los perros. Está compuesto por los niveles de creatinina sérica, urea y electrolitos en la sangre. Los niveles de creatinina tienen importancia primordial, ya que se considera el marcador

más utilizado para medir la tasa de filtración glomerular, la unidad básica del sistema renal (Heine y Lefebvre, 2007). Se ha encontrado que la función renal en los cachorros es muy diferente en comparación con los datos publicados en perros adultos (Laurete y *col.*, 2005).

En la figura 17 se muestra de forma esquemática la disposición anatómica de las nefronas dentro del riñón y resume las principales funciones de los diferentes segmentos de la nefrona, el glomérulo de la nefrona yuxtamedular se localiza en el interior de la corteza renal, cerca del límite corticomedular. La rama descendente (RD) del asa de Henle profundiza dentro de la medula interna. El glomérulo de la nefrona superficial se localiza en la porción externa de la corteza y el asa de Henle se extiende solo en la medula externa. Las flechas indican la dirección del flujo del líquido tubular. Los segmentos se numeran en orden secuencial de la modificación de dicho líquido: glomérulo; túbulo colector cortical (TCC); segmento conector (SC); rama ascendente cortical (RAC); túbulo contorneado distal (TCD); túbulo colector medular interno (TCMI); rama ascendente medular (RAM); túbulo colector medular externo (TCME); túbulo contorneado proximal (TCP); túbulo recto proximal (TRP), (Cunningham y Klein, 2013).





**Figura 17. Esquema de las nefronas superficial y yuxtamedular**  
 Resumen de las funciones de los segmentos de la nefrona y los túbulos.  
 Fuente: Cunningham y Klein, 2013

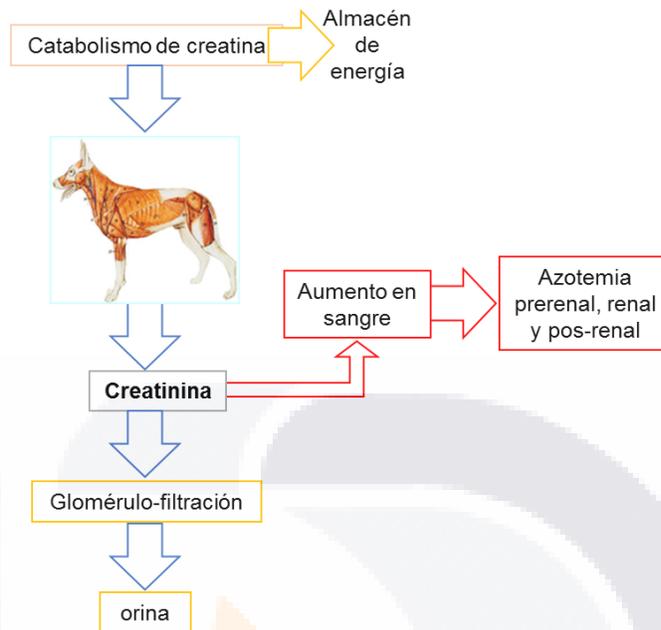
### 1.3.1. Creatinina

La creatinina plasmática es una molécula pequeña (113 Daltons) que deriva en su totalidad del catabolismo de la creatina que se encuentra en los tejidos musculares del organismo. La creatina se utiliza para almacenar energía en el músculo (como fosfocreatina) y su degradación a creatinina se produce de manera estable (alrededor del 2% diario). El comportamiento de la creatina a partir del que se libera la creatinina depende de la masa muscular total que es en donde se encuentra el 95% de la creatina del organismo, por este motivo, en situaciones de desgaste muscular u otras enfermedades relacionadas, se produce menos creatinina; a la inversa, el ejercicio prolongado intenso puede incrementar los niveles de creatinina (Bush, 1999; Braun, Lefebvre y Watson, 2003).

La creatinina es un producto de desecho del músculo. Ésta también aumenta a medida que disminuye la función renal. Fuera de los riñones, pocas cosas afectan la concentración de creatinina, por esta razón es el mejor marcador de la función renal. Lo que sí afecta la creatinina es la masa muscular como ya se mencionó; perros muy delgados a causa de atrofia muscular pueden tener bajos niveles de creatinina aparentes, en comparación con la capacidad real del funcionamiento de sus riñones (Langston, 2011).

El aumento en su concentración sérica indica el descenso de la tasa de filtración glomerular (Martínez y Carvalho, 2010). Sin embargo para una interpretación correcta debe tomarse en cuenta que es necesaria una insuficiencia superior al 50% de la capacidad glomerular total para que incremente tanto la creatinina como la urea. En la figura 18 se puede observar la fisiología normal y patológica de la creatinina (Kraft y *col.*, 1998).

La excreción de la creatinina solo se realiza por vía renal; se fija libremente y no se reabsorbe. En el perro una pequeña cantidad se secreta en los túbulos proximales. Los niveles de creatinina plasmática reflejan excreción; los niveles altos indican una deficiencia en la funcionalidad renal, sin embargo, no se encuentran niveles bajos de creatinina, aunque se presentan en algunos casos como los descritos en el cuadro 14 (Bush, 1999).



**Figura 18. Fisiología normal y patológica de la creatinina**

Esquema de la síntesis y eliminación de la creatinina, también se observan algunas causas que pueden incrementar su concentración en sangre.

Los valores de creatinina sérica en perros adultos están influenciados por la masa corporal, en consecuencia las razas de perros de diferentes tamaños poseen valores de creatinina diferentes. Los profesionales relacionados con el área de diagnóstico veterinario deben tomar en cuenta los valores de referencia de creatinina sérica establecidos en función de su masa corporal, cuando investiguen el funcionamiento renal en perros (Castellanos y col., 2009). Por ello, los valores de referencia de creatinina deben ser evaluados a fin de adaptarlos a las razas o a las masas corporales/musculares de los perros (Medaille y col., 2004).

Un estudio reciente en el que se midió la creatinina en animales sanos de distintos tamaños, mostró que el rango de valores de creatinina en perros de peso inferior a 10 kg era de 0.48-1.02 mg/dL, mientras que en perros de 26-45kg y en aquellos con peso superior a 45 kg los valores fueron 0.60-2.01 y 0.88-1.82 mg/dL, respectivamente (Craig y col., 2006).

Además, la deshidratación (> 5%) puede incrementar la concentración de creatinina, aunque el incremento no tiene porqué ser proporcional a la severidad de la deshidratación. También el uso de fármacos nefrotóxicos (aminoglicósidos, anfotericina B, cisplatino) puede provocar un incremento en la concentración de

creatinina. Sin embargo, pueden observarse ligeras elevaciones en los niveles de creatinina poco después de iniciar un tratamiento con inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (debido a los efectos que estos fármacos tienen sobre la filtración glomerular), sin que ello represente un deterioro de la función renal. Por el contrario, los glucocorticoides pueden causar una disminución en la concentración plasmática de creatinina en perros sanos (Braun y col., 2003).

**Cuadro 14. Causas de disminución e incremento de creatinina.**

Causas de valores falsamente disminuidos	Causas de incremento
Desaparición lenta pero progresiva a lo largo del tiempo de la creatinina de las muestras. Niveles altos de bilirrubina (al utilizar las reacciones cinéticas de Jaffé).	<p><b>Azotemia prerenal.</b>                      Disminución de la perfusión renal (deshidratación, hemorragia grave, shock, hipoadrenocorticism, reducción del gasto cardíaco, hipoalbuminemia).</p> <p><b>Azotemia renal.</b>                      Insuficiencia renal aguda primaria (renal).                      Insuficiencia crónica.</p> <p><b>Azotemia postrenal.</b>                      Obstrucción del flujo urinario (alteraciones congénitas, cálculos, neoplasias, coágulos sanguíneos, ligaduras quirúrgicas, hernias, trastornos prostáticos). Rotura de vejiga (contaminación por amonio).                      Ejercicio intenso.                      Error (presencia de cuerpos cetónicos/fármacos, especialmente cefalosporinas).</p>

**1.3.2. Urea**

La urea se excreta casi exclusivamente a través de los riñones aunque las bacterias intestinales degradan cantidades importantes de la misma en amoníaco, éste se recicla en el hígado, donde se sintetiza de nuevo urea (Heine y Lefebvre, 2007). Por lo tanto, se elimina por glomérulo-filtración renal, excretándose con la orina, sin embargo, una parte de la urea es filtrada por los glomérulos y un 25-40% es reabsorbido a nivel tubular (aunque depende de la hidratación del animal y de la tasa de formación de orina). El incremento del flujo de filtrado reduce la reabsorción de urea mientras que los flujos lentos la facilitan. Los niveles del nitrógeno ureico se pueden incrementar con el aumento del consumo de alimentos ricos en proteína, desintegración tisular catabólica y hemorragia dentro del conducto gastrointestinal (Willard y Tvedten, 2012).

La deshidratación, la ingesta de dietas hiperproteicas, el sangrado gastrointestinal y todas aquellas situaciones en las que aumenta el catabolismo proteico (infecciones, fiebre, estados de inanición, entre otras), así como algunos fármacos (tetraciclinas, corticoides o azatioprina) pueden provocar incrementos en las concentraciones de urea (Heine y Lefebvre, 2007).

Un ligero aumento de la urea no es el resultado de una insuficiencia renal. Niveles de urea en perros, de 17-20 mmol/L o más son significativos. Es poco probable que valores >16 mmol/l solo sean debidos a degradación de proteínas. Es difícil que niveles por encima de 35 mmol/L se deban a perfusión renal alterada (incluso si es grave), más bien puede ser una insuficiencia renal crónica o aguda, u obstrucción del tracto urinario. Los niveles por encima de 67-70 mmol/L constituyen un pronóstico grave (Bush, 1999).

En el cuadro 15 se describen las causas de disminución de urea en sangre, como también los tipos de azotemias y sus causas.

La relación entre la concentración de urea y creatinina puede ser útil para evaluar el origen de la azotemia. En animales con azotemia pre/post-renal se produce un incremento mucho más severo en la concentración de urea que en la de creatinina (Heine y Lefebvre, 2007).

**Cuadro 15. Causas de disminución e incremento de urea.**

Causas de disminución	Causas de incremento
Ingesta reducida o fracaso de proteínas Hembras gestantes Dieta pobre en proteínas. Esteroides anabólicos. Insuficiencia hepática. Shunt portosistémico. Diabetes insípida y polidipsia psicogénica. Hiperamonemia primaria (muy rara).	<p><b>Azotemia prerenal.</b>                      Incremento de degradación de proteínas (dieta rica en proteínas, deficiencia de carbohidratos, hemorragia intestinal, fiebre y necrosis, hipertiroidismo, ejercicio prolongado, fármacos catabólicos, reducción del anabolismo).                      Reducción de la perfusión renal (deshidratación, hemorragia grave, shock, hipoadrenocorticismo, reducción del gasto cardiaco, hipoalbuminemia).</p> <p><b>Azotemia renal.</b>                      Insuficiencia renal aguda primaria nefritis intersticial aguda, necrosis tubular aguda, insuficiencia renal crónica, glomerulonefritis crónica, amiloidosis crónica, pielonefritis crónica, nefrocalcinosis difusa, neoplasia).</p> <p><b>Azotemia postrenal.</b>                      Obstrucción del flujo urinario (alteraciones congénitas, cálculos, neoplasias, coágulos sanguíneos, ligaduras quirúrgicas, hernias, trastornos prostáticos).                      Rotura de vejiga (contaminación por amonio)</p>

Para aumentar la sensibilidad y especificidad de la creatinina y la urea como indicadores de la tasa de filtración glomerular es aconsejable que ambos parámetros se determinen a la vez. En cualquier caso, una vez descartados los factores renales que pueden influir en el resultado, un incremento en la concentración de estos parámetros implica que por lo menos se ha perdido un 75% de la masa renal funcional (Cortadellas y Fernández, 2012)

Es importante apreciar que en la antigüedad las concentraciones de urea se expresaban como la concentración de urea por si misma o las concentraciones del componente nitrogenado de esta urea. Lo último se refiere como nitrógeno ureico en sangre (BUN), aunque se mida en plasma o suero; a veces se denomina “nitrógeno ureico en suero”. Como el nitrógeno es solo una parte de la molécula de urea el nivel de BUN es menor que el de la urea (pesos moleculares: BUN = 28, urea = 60), los factores para la conversión de urea a BUN y viceversa se presentan en el cuadro 16:

**Cuadro 16. Factores de conversión de Urea/BUN.**

Para convertir BUN (mg/dL) en urea (mg/dL) multiplicar por 2.14
Para convertir urea (mg/dL) en BUN (mg/dL) multiplicar por 0.47
Para convertir BUN (mg/dL) en urea (mmol/L) multiplicar por 0.36
Para convertir urea (mmol/L) en BUN (mg/dL) multiplicar por 2.8

## 2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

### 2.1. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

Si se analizan los componentes bioquímicos indicadores del funcionamiento hepático y renal en perros sanos desde el punto de vista clínico, se encontraran diferencias entre los valores de referencia, según el género y edad.

### 2.2. OBJETIVOS

#### 2.2.1. Objetivo general

Obtener los valores de los componentes bioquímicos indicadores del funcionamiento hepático y renal en perros sanos desde un punto de vista clínico atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes clasificados por edad y género; para elaborar una tabla de valores normales comparados con las fuentes de referencia.

#### 2.2.2. Objetivos específicos

**2.2.2.1.** Obtener valores bioquímicos indicadores de función hepática (ALT, AST, LDH, FAS, GGT, urea, colesterol, triglicéridos, glucosa, proteínas totales y albúmina) y renal (creatinina, urea, proteínas totales y albúmina) clasificados por edad y género.

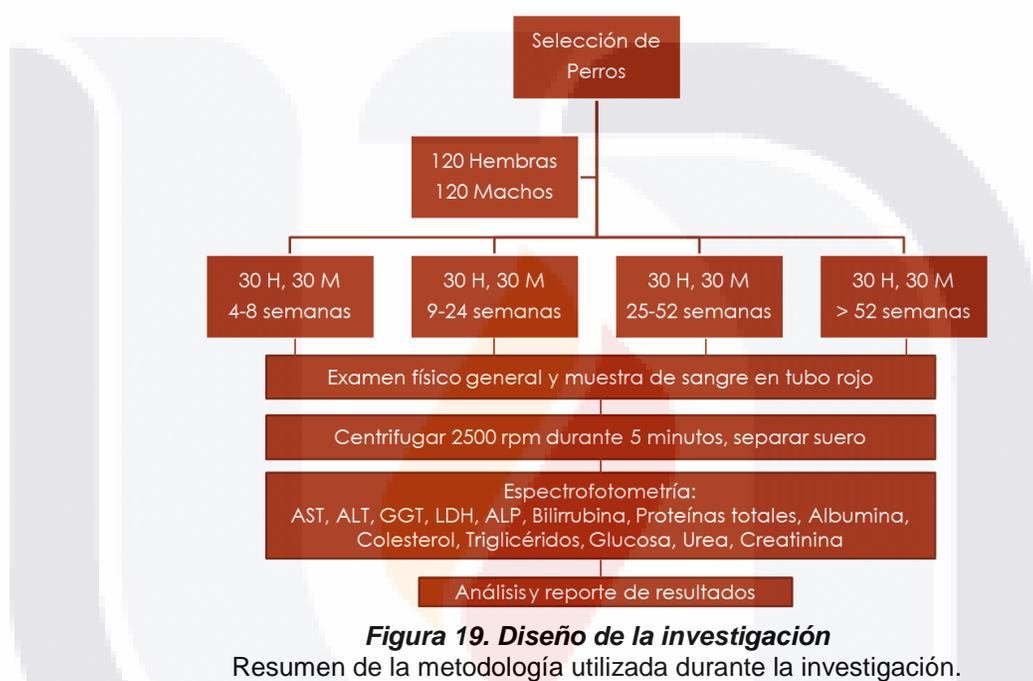
**2.2.2.2.** Elaborar una tabla de valores bioquímicos sanguíneos para que sean utilizados en la clínica veterinaria de pequeñas especies.

**2.2.2.3.** Comparar los valores bioquímicos obtenidos con los valores de fuentes de referencia existentes (meta-análisis).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente estudio se realizó con un diseño no experimental de tipo transversal. En la figura 19 se observa el resumen de los pasos que se llevan a cabo para elaborar dicho estudio; los que son descritos a detalle más adelante.



##### 3.1.1. Características generales de la población bajo estudio

La población de estudio estuvo constituida por perros sanos desde el punto de vista clínico clasificados en grupos de diferentes edades: grupo I (60 perros de 4-8 semanas), grupo II (60 de 9-24 semanas), grupo III (60 de 25-52 semanas) y grupo IV (60 mayores a 52 semanas) ); así como de diferente género (n = 30), 220 animales provenían de casas privadas, donde la mayoría de ellos son atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (HV-UAA; figura 20), mientras que los 20 restantes provenían de una asociación protectora de animales.



**Figura 20. Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes**  
Lugar donde se llevó a cabo la selección y obtención de muestras sanguíneas.

### 3.1.2. Ubicación geográfica del estudio

El estudio se realiza en la ciudad de Aguascalientes (figura 21), que se localiza en las siguientes coordenadas geográficas: al Norte 22° 27´; al Sur 21° 38´ de latitud norte; al este 101° 53´ y al oeste 102° 52´ de longitud oeste. El tipo de clima es de carácter semiseco, se le denomina también seco estepario, se caracteriza porque en él, la evaporación excede a la precipitación y está asociado principalmente a comunidades vegetativas del tipo de matorral desértico y vegetación xerófila. Se localiza en casi todo el estado, cubre un aproximado del 86.30% de la superficie. La precipitación pluvial media anual oscila entre los 500 y 600 mm y la temperatura media anual es superior a los 18°C. La máxima ocurrencia de lluvias oscila entre los 110 y 120 mm, registrándose en el mes de junio. La mínima se presenta en el mes de marzo con un rango menor de 5 mm. El régimen térmico más cálido se registra en mayo con una temperatura entre los 22 y los 23°C, el mes más frío es enero con una temperatura de 13 a 14°C, la altitud de la ciudad capital es de 1870 msnm.



**Figura 21. Ubicación geográfica del estudio**

### 3.1.3. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Se incluyeron aquellos perros sanos desde un punto de vista clínico con motivo de consulta de:

- a) Vacunación
- b) Revisión general
- c) Preparación para cirugía ambulatoria (ovariohisterectomía, orquiectomía y cirugías estéticas).
- d) Con ayuno de dos horas máximo para los menores de dos meses y de más de dos horas para pacientes mayores de dos meses.

Fueron excluidos aquellos perros que presentaron:

- a) Estado de gestación
- b) Hembras recién paridas o lactantes
- c) Pacientes que se encontraron bajo tratamiento
- d) En los que se observó algún signo de patología
- e) Aquellos que consumieron algún alimento dentro de las horas ya establecidas.

Se eliminaron aquellas muestras que resultaron:

- a) Lipémicas
- b) Hemolizadas
- c) Ictéricas

### 3.1.4. Métodos de toma de muestra

Para realizar la evaluación bioquímica una vez que los perros seleccionados cumplieron con los criterios antes mencionados y posterior a su examen físico (anexo R); se les tomó una muestra de sangre de vena yugular depositada en tubos al vacío sin anticoagulante y con revestimiento de silicona para evitar la adsorción de algunos analitos en el vidrio del tubo; después la muestra de sangre fue centrifugada para separar el suero en un vial y congelarlo hasta su posterior análisis por medio de espectrofotometría (anexo B).

**3.1.5. Control de calidad**

Para asegurar la calidad de los resultados que se emiten en un laboratorio de bioquímica sanguínea se consideraron 3 niveles de control de calidad. Cada nivel es indispensable para controlar los errores ligados a diferentes opciones tal como se muestra en el cuadro 17.

**Cuadro 17. Niveles de control de calidad.**

<b>Control de calidad</b>	
<b>Nivel 1</b>	Muestra, material, reactivos, equipos y operador
<b>Nivel 2</b>	Blancos, estándares/curvas de calibración, duplicaciones de las muestras, sueros controles, sueros residuales, testigos internos
<b>Nivel 3</b>	Controles interlaboratoriales

Cada uno de los niveles de control de calidad mencionados, son expuestos en el anexo C de manera más detallada. Además, es importante mencionar que el espectrofotómetro BTS- 350 tiene un sistema de control de calidad interno en base a las gráficas de Levey-Jenings; este análisis permite aplicar las reglas de Westgard.

### 3.2. TÉCNICAS DE LABORATORIO

Cada una de las diferentes técnicas evaluadas requiere de un método, tipo de ensayo, lectura, tipo de reacción y longitud de onda específica como se muestra en el cuadro 18.

**Cuadro 18. Características de las técnicas de laboratorio.**

Analito	Método/Principio	Tipo de ensayo	de	Modo de lectura	Tipo de reacción	de	Longitud de onda
ALT	IFCC modificado	Cinético		-	Decreciente		340 nm
AST	IFCC modificado	Cinético		-	Decreciente		340 nm
LDH	IFCC modificado	Cinético		-	Creciente		340 nm
ALP	p-NPP	Cinético		-	Creciente		405 nm
GGT	GLUPAC	Cinético		-	Creciente		405 nm
Colesterol	Enzimático	Punto final		Monocromática	Creciente		500 nm
Triglicéridos	Enzimático	Punto final		Monocromática	Creciente		500 nm
Glucosa	Enzimático	Punto final		Monocromática	Creciente		500 nm
PT	Biuret	Punto final		Monocromática	Creciente		540 nm
Albúmina	BCG	Punto final		Monocromática	Creciente		630 nm
Bilirrubina	Díazo	Punto final		Bicromática	Creciente		555 nm
Urea	Ureasa, GLDH	Tiempo fijo		-	Decreciente		340 nm
Creatinina	Jaffe, ácido pícrico	Cinético		-	Creciente		510 nm

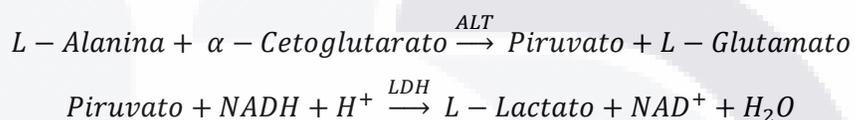
IFCC indicates International Federation of Clinical Chemistry; GLUPAC, Ly-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide; p-NPP, p-Nitrofenil phosphate; BCG, Bromocresol green dye binding; GLDH, glutamate dehydrogenase.

\*All reagents were obtained from the analyzer manufacturer, BTS-350 BioSystems (Barcelona, Spain).

### 3.2.1. Pruebas bioquímicas indicadoras de daño hepático

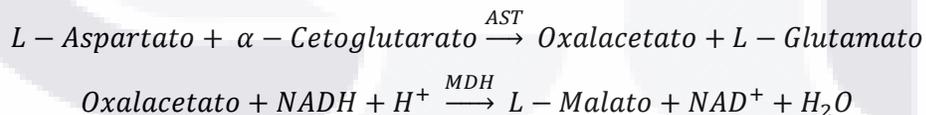
#### 3.2.1.1 Cuantificación de alanino aminotransferasa

La ALT cataliza la transferencia del grupo amino de la L-alanina de  $\alpha$ -cetoglutarato resulta en la formación de piruvato y L-glutamato, la lactato deshidrogenasa cataliza la reducción del piruvato y la oxidación simultanea de NADH a NAD. La tasa resultante de la disminución de la absorbancia es proporcional a la actividad de ALT (Bergmeyer, 1980). En el anexo D se observa la descripción detallada de la metodología.



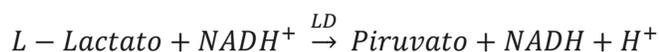
#### 3.2.1.2 Cuantificación de aspartato aminotransferasa

La AST cataliza la transferencia del grupo amino de la L-aspartato de  $\alpha$ -cetoglutarato para producir oxalacetato y L-glutamato. El oxalacetato se somete a la reducción de la oxidación simultánea de NADH a NAD en malato deshidrogenasa (MDH) la reacción catalizada por el indicador. La tasa resultante de la disminución de la absorbancia a 340 nm es proporcional a la actividad de la AST. Lactato deshidrogenasa (LDH) se añade para evitar la interferencia del piruvato endógeno que está presente en el suero de manera normal (Bowers y col., 1979); anexo E).



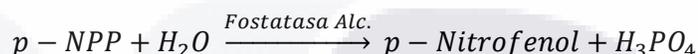
#### 3.2.1.3. Cuantificación de lactato deshidrogenasa

Este método sigue la reacción de lactato a piruvato y ha sido optimizado para mejorar la sensibilidad y linealidad como lo indica (Gay y col., 1968). El lactato deshidrogenasa cataliza la oxidación del lactato a piruvato con reducción simultánea de NAD a NADH. La tasa de reducción de NAD se puede medir como un aumento en la absorbancia a 340 nm. Esta tasa es proporcional a la actividad de LD en el suero (anexo F).



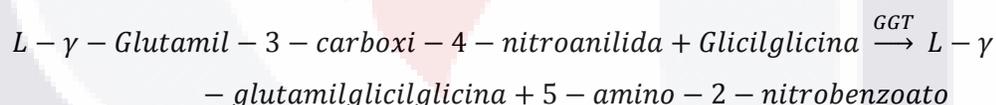
#### 3.2.1.4. Cuantificación de fosfatasa alcalina

El éster *p*-Nitrofenil fosfato (*p*-NPP) es hidrolizado a *p*-Nitrofenol y fosfato inorgánico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). La velocidad a la que el *p*-NPP se hidroliza cuando se mide a 405 nm, es proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina (Tietz y col., 1983); anexo G).



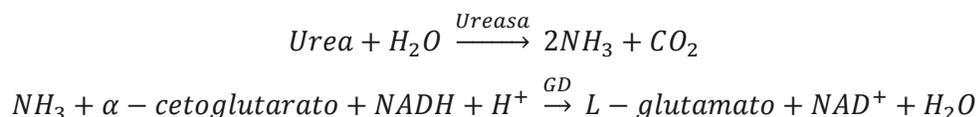
#### 3.2.1.5. Cuantificación de $\gamma$ -glutamil transferasa

Los métodos para la determinación de GGT se basan en el uso de derivados de glutamilo de aminas aromáticas como material de sustrato (Demetriou y col., 1974). Este reactivo utiliza el soluble derivado de 3-carboxilo. La GGT en la muestra cataliza la transferencia del grupo glutamil de *L*-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida (GLUPAC) a glicilglicina. La cantidad de 5-amino-2-nitrobenzoato formado es proporcional a la actividad de GGT y puede ser medido cinéticamente a 405 nm (Szasz, 1974; anexo H).



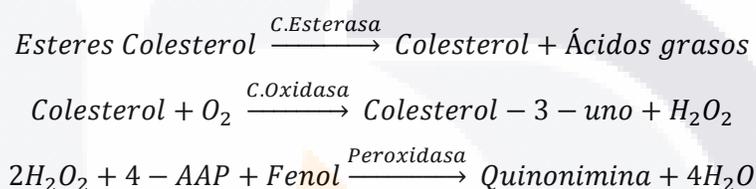
#### 3.2.1.6. Cuantificación de urea

La urea ha sido determinada por el método directo, donde la urea se condensa con diacetil para formar un cromógeno y un método indirecto donde el amoníaco se mide como un producto de la acción de la ureasa sobre la urea. La urea es hidrolizada por la ureasa para producir amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco liberado reacciona con  $\alpha$ -cetoglutarato en presencia de NADH para dar glutamato. Una cantidad equimolar de NADH se oxida durante la reacción que resulta en una disminución de la absorbancia que es proporcional a la concentración de nitrógeno de urea en la muestra, este es un método modificado (Talke, 1965); anexo I).



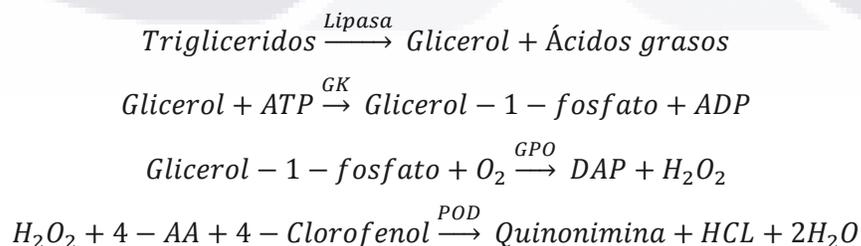
### 3.2.1.7. Cuantificación de colesterol

El método de Trinder (1969) sistema de color de peroxidase/fenol/4-aminoantipirina ha sido utilizado con éxito tiempo atrás. La intensidad del color rojo producido es proporcional a la del colesterol total en la muestra cuando se lee a 500nm (anexo K).



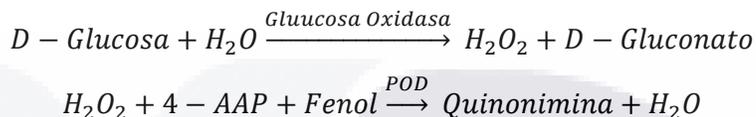
### 3.2.1.8. Cuantificación de triglicéridos

Este método se basa en el procedimiento de Fossati y Prencipe (1982). Los triglicéridos en suero son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres por la lipasa. En presencia de ATP y glicerol quinasa (GK), el glicerol se convierte en glicerol-1-fosfato. El glicerol-1-fosfato se oxida por glicerol fosfato oxidasa (GPO) para producir peróxido de hidrógeno. La condensación de peróxido de hidrógeno con 4-clorofenol y 4-aminofenazona (4-AA) en presencia de peroxidasa (POD) produce un colorante de color rojo quinonimina. La intensidad del color rojo producido es proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra cuando se lee a 500 nm (anexo L).



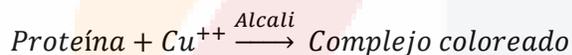
### 3.2.1.9. Cuantificación de glucosa

En el método modificado de Trinder (1969) la glucosa es oxidada por la oxidasa a gluconato y peróxido de hidrógeno. El Fenol + 4-AAP + peróxido de hidrógeno, en presencia de peroxidasa, produce un colorante quinonimina. La absorbancia a 500 nm es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra (anexo M).



### 3.2.1.10. Cuantificación de proteínas totales.

Este método se basa en los de Kingsley (1939, 1942). Las proteínas en suero forman un complejo azul cuando reaccionan con el cobre en solución alcalina. La intensidad del color es proporcional a la concentración de proteínas presente al comparar con otra solución con concentración conocida de proteínas (anexo N).



### 3.2.1.11. Cuantificación de albúmina

Batholomew y Delaney (1964) propusieron un método con verde de bromocresol (BCG). Este procedimiento incluye el tiempo de medición reducido para eliminar la interferencia de globulina anormal y ofrece linealidad de 8.0 g/dL. La albúmina se une con el colorante BCG para producir un aumento color verde-azul medido a 630 nm. El aumento de color es proporcional a la concentración de albúmina presente (anexo O).

### 3.2.1.12. Cuantificación de bilirrubina total

Este método usa dimetilfoxido (DMSO) basado en una modificación de Walters y Gerarde (1970). La bilirrubina directa e indirecta se acoplan con el ácido sulfanilico diazotizado (Diazo) para producir azobilirrubina en presencia de DMSO. La intensidad

del color producido es proporcional a la cantidad de la concentración de bilirrubina total presente en la muestra (anexo P).

### **3.2.1.13. Cuantificación de bilirrubina directa**

El método de Ehrlich y Zeitschr (1884) describe una reacción de la bilirrubina que se une con ácido sulfanílico diazotizado (ácido-p-Diazobenzensulfónico) para producir un tinte de color rosa en un medio ácido y azul en uno alcalino. El ácido sulfanílico reacciona con nitrato de sodio para producir ácido sulfanílico diasotizado. La bilirrubina directa se une con el diazo para formar azobilirrubina. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de bilirrubina presente en la muestra (anexo Q).

### **3.2.2. Pruebas bioquímicas indicadoras de daño renal**

#### **3.2.2.1. Cuantificación de creatinina**

Este método descrito por Jaffe (1886) para la determinación de creatinina que comprende un filtrado libre de proteínas y una reacción con ácido pícrico en solución alcalina. La creatinina reacciona con el ácido de pícrico en condiciones alcalinas para formar un complejo de color que absorbe a 510 nm. La velocidad de la formación del color es proporcional a la creatinina en la muestra (anexo J).

#### **3.2.2.2. Cuantificación de urea**

Ya fue descrita en el apartado de perfil hepático.

### 3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información acerca de cada uno de los pacientes, adquirida en el examen físico general; como la edad, género, constantes fisiológicas, etc. fue capturada en una hoja clínica descrita en el (anexo R). Además los resultados obtenidos de cada prueba bioquímica realizada a los perros que participaron en este estudio fueron enviados a sus respectivos propietarios (anexo S).

Los datos y resultados de cada individuo fueron capturados y ordenados en una hoja electrónica de Microsoft Excel® para facilitar su interpretación. Además, también se realizó un meta-análisis en el que se vaciaron todos los resultados obtenidos por otros autores para poder compararlos con los encontrados en este estudio. El análisis estadístico se realizó con ayuda de Minitab 17 (Minitab Statistical Software Inc., State College, Pennsylvania). Considerando un nivel de significancia  $p < 0.05$ .

Todos los datos se compararon por género y por 4 diferentes grupos de edades: de 4-8, 9-24, 25-52 y mayores a 52 semanas de edad. A todos los datos se les realizó una inspección visual de la distribución de las observaciones a través de histogramas y se aplicó la prueba de normalidad de Anderson-Darling; también se evaluó la homocedasticidad de varianzas con el método de Levene y Bartle; una vez que los resultados cumplían con estos supuestos se realizó un ANOVA mediante la prueba de Tukey.

En el caso de los datos que no cumplieron con los supuestos de normalidad se utilizaron pruebas no paramétricas como la de Mann-Whitney y la prueba de Kruskal-Wallis.

Por último, para determinar los valores de referencia de cada uno de los analitos se utilizó el complemento Reference Value Advisor V 2.1 (RefValAdvV21, Toulouse) en Microsoft Excel®. Para las variables que siguen una distribución Gaussiana y después de eliminar los *outliers* con la prueba de Tukey y Dixon, se determinaron los intervalos de referencia con un nivel de confianza del 90% con ayuda de un método estándar usando un *bootstrap* paramétrico. Para las variables que no tuvieron una distribución Gaussiana se realizó una transformación Box-Cox de los datos, se eliminaron los *outliers* y se utilizó un *bootstrap* no paramétrico, finalmente se obtuvieron los intervalos de referencia a un nivel de confianza del 90% (Geffré y col., 2011).

## 4. RESULTADOS

Fueron colectadas y analizadas un total de 240 muestras sanguíneas; incluyendo 102 muestras de diferentes razas (Beagle, Bóxer, Caniche, Chihuahua, Doberman, Labrador retriever, Pastor alemán, Pitbull terrier, Pug, Schnauzer, Rottweiler) y 138 muestras de mestizos. Además, fueron excluidas un total de 9 muestras lipémicas, 4 muestras con hemólisis y 2 muestras ictericas. 7 observaciones fueron excluidas de los valores de referencia por presencia de enfermedad subclínica.

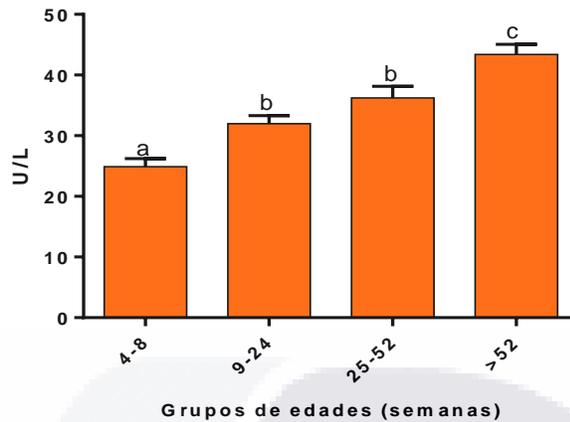
En cada uno de los analitos se comparó el efecto del género de forma individual (grupo por grupo,  $n$  30) después se observó el efecto de la edad comparando todos los grupos de edades ( $n$  60). Además para cada analito se determinó la distribución, media, mediana, desviación estándar, el mínimo y máximo, la diferencia significativa con un intervalo de confianza del 95% y los valores de referencia con un intervalo de confianza del 90% (cuadro 19).

### 4.1. Efecto del género sobre las variables bioquímicas

No se observaron diferencias significativas en AST, ALT, GGT, LDH, FAS, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, glucosa, urea, creatinina, bilirrubina total y bilirrubina directa.

### 4.2. Efecto de la edad sobre las variables bioquímicas

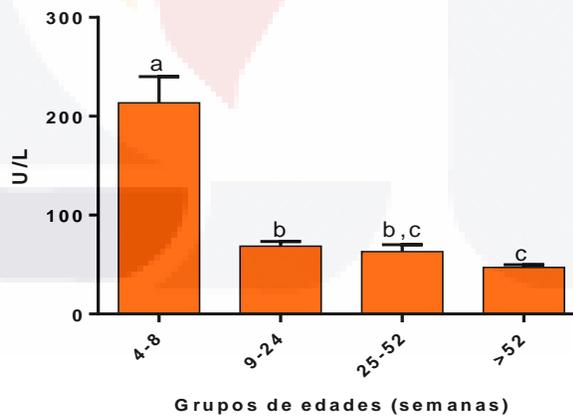
No se observaron diferencias significativas en AST. Con respecto a la actividad enzimática de ALT en los cachorros de 4 a 8 semanas de edad (grupo I) fue menor que la actividad de los cachorros de 9 a 52 semanas y de los adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p$  0.00 < 0.05), además también fue menor la actividad en los cachorros de 9 a 52 semanas (grupo II y III) en comparación con los adultos del grupo IV ( $p$  0.03 < 0.05) como se observa en la figura 22.



**Figura 22. Actividad enzimática de ALT en suero sanguíneo.**

En donde se muestra la media y el error estándar de cada grupo; (I)  $24.9 \pm 1.3$  U/L, (II)  $32 \pm 1.3$  U/L, (III)  $36.2 \pm 1.9$  U/L y (IV)  $43.4 \pm 1.6$  U/L, por lo tanto, se observa una tendencia a incrementar la actividad enzimática en relación a la edad.

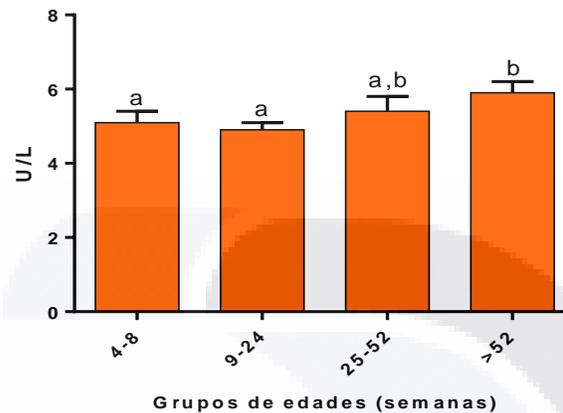
De acuerdo al análisis de la enzima LDH se mostró una actividad mayor en los cachorros de 4 a 8 semanas de edad en comparación con los grupos II, III y IV ( $p < 0.00 < 0.05$ ); además en los cachorros de 9 a 24 semanas (grupo II) la actividad enzimática fue mayor que la del grupo IV de adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p < 0.002 < 0.05$ ); en la figura 22 se observa que a partir de las 25 semanas de edad la actividad enzimática de LDH es similar a la de los adultos.



**Figura 23. Actividad enzimática de LDH en suero sanguíneo**

Se muestra una tendencia decreciente de la actividad enzimática en relación a la edad, donde la media y el error estándar de cada grupo son los siguientes: (I)  $213.6 \pm 26.4$  U/L, (II)  $68.6 \pm 4.6$  U/L, (III)  $63.2 \pm 6.9$  U/L y (IV)  $47.2 \pm 2.7$  U/L.

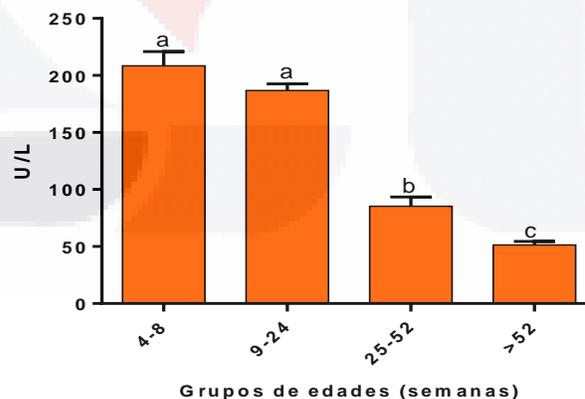
En relación con la GGT en los cachorros de 4 a 24 semanas de edad (grupo I y II) su actividad es menor que en los adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p < 0.01$   $< 0.05$ ) esto se puede observar en la figura 24.



**Figura 24. Actividad enzimática de GGT en suero sanguíneo**

Se aprecia la media y el error estándar de cada grupo de edad; (I)  $5.1 \pm 0.3$  U/L, (II)  $4.9 \pm 0.2$  U/L, (III)  $5.4 \pm 0.4$  U/L y (IV)  $5.9 \pm 0.3$  U/L.

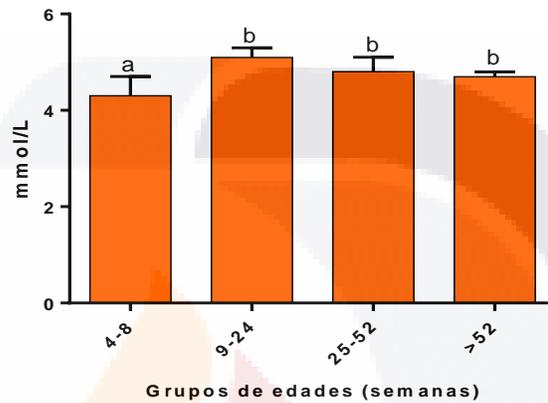
Al analizar la actividad de la FAS (figura 25) se observó que en los cachorros de 4 a 24 semanas de edad, es diferente de manera significativa en comparación con los cachorros de 25 a 52 semanas de edad (grupo III) y los adultos ( $p < 0.00$   $< 0.05$ ); además la actividad enzimática del grupo III difiere de la actividad del grupo IV de adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p < 0.002$   $< 0.05$ ).



**Figura 25. Actividad enzimática de FAS en suero sanguíneo**

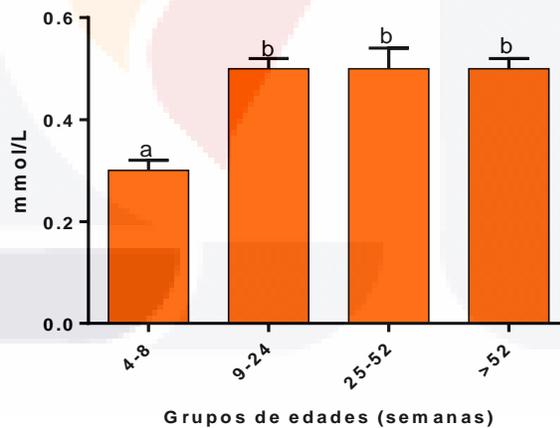
La media y el error estándar de cada grupo fue: (I)  $208.5 \pm 12.4$  U/L, (II)  $186.8 \pm 5.6$  U/L, (III)  $85.3 \pm 8$  U/L y (IV)  $51.4 \pm 2.9$  U/L, lo que indica un descenso en la actividad enzimática de FAS al incrementar la edad.

Durante la observación de la concentración de colesterol (figura 26) y triglicéridos (figura 27) en suero sanguíneo de los cachorros de 4 a 8 semanas de edad, es menor en comparación con la concentración de los cachorros de 9 a 52 semanas y de los adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p\ 0.01 < 0.05$ ); es decir, la concentración de ambos analitos, se mantiene de manera similar a la de los adultos a partir de las 9 semanas de edad.



**Figura 26. Concentración de colesterol en suero sanguíneo**

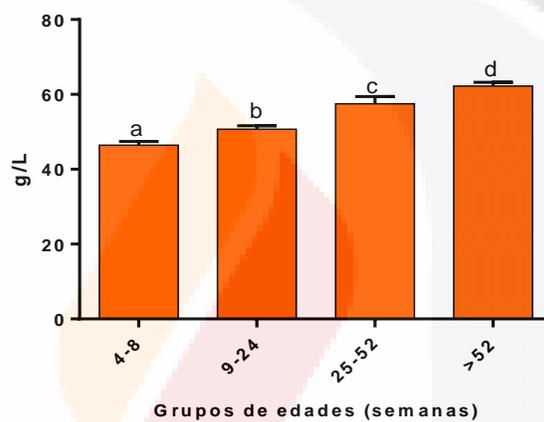
Se puede observar la media y el error estándar de cada grupo; (I)  $4.3 \pm 0.4$  mmol/L, (II)  $5.1 \pm 0.2$  mmol/L, (III)  $4.8 \pm 0.3$  mmol/L y (IV)  $4.7 \pm 0.1$  mmol/L.



**Figura 27. Concentración de triglicéridos en suero sanguíneo**

Se muestra la media y error estándar de cada grupo de edad; (I)  $0.3 \pm 0.02$  mmol/L, (II)  $0.5 \pm 0.02$  mmol/L, (III)  $0.5 \pm 0.04$  mmol/L y (IV)  $0.5 \pm 0.02$  mmol/L, es importante señalar que en este estudio los análisis fueron realizados en animales que presentaron ayuno.

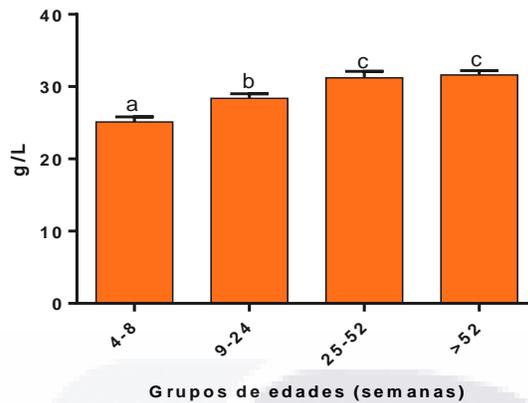
Con respecto a la concentración de las proteínas totales en suero sanguíneo, se observó un efecto ascendente en relación a la edad; debido a ello, todos los grupos fueron diferentes de manera significativa, en el grupo I de cachorros de 4 a 8 semanas de edad la concentración fue menor que en los cachorros de 9 a 52 semanas y adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p 0.00 < 0.05$ ); la concentración de los cachorros de 9 a 24 semanas de edad del grupo II fue menor que la de los cachorros de 25 a 52 semanas (grupo III) y adultos ( $p 0.0076$  y  $p 0.00 < 0.05$ ); por último la concentración del grupo III fue menor que la del grupo IV de adultos ( $p 0.019 < 0.05$ ). Por lo tanto, en este estudio los cachorros alcanzaron los valores de adultos a partir de las 52 semanas de edad como se observa en la figura 28.



**Figura 28. Concentración de proteínas totales en suero sanguíneo**

La media y el error estándar para cada uno de los grupos fue: (I)  $46.4 \pm 1$  g/L, (II)  $50.7 \pm 0.9$  g/L, (III)  $57.5 \pm 1.9$  g/L y (IV)  $62.2 \pm 1$  g/L, donde se aprecia una tendencia a incrementar la concentración de proteínas totales en relación a la edad.

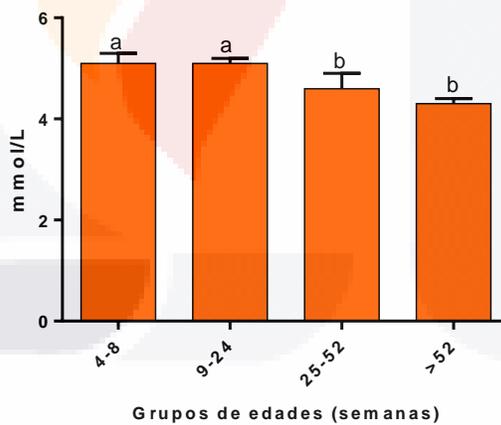
Asimismo, la concentración de albúmina sérica del grupo I fue significativamente menor en comparación con la concentración de los grupos II, III y IV ( $p 0.00 < 0.05$ ); además el grupo II de cachorros de 9 a 24 semanas de edad fue menor a la concentración de los grupos III y IV ( $p 0.00 < 0.05$ ); por esta razón, se observó una tendencia creciente de la concentración de albúmina sérica en relación a la edad (figura 29).



**Figura 29. Concentración de albúmina en suero sanguíneo**

Los cachorros alcanzaron los valores de adultos entre las 25 a 52 semanas de edad; la media y el error estándar para cada grupo fue: (I)  $25.1 \pm 0.7$  g/L, (II)  $28.4 \pm 0.6$  g/L, (III)  $31.2 \pm 0.9$  g/L y (IV)  $31.6 \pm 0.6$  g/L.

En cuanto a la concentración de glucosa, esta fue mayor en el grupo I de cachorros de 4 a 8 semanas y el grupo II de 9 a 24 semanas de edad en comparación con la concentración del grupo IV de adultos mayores a 52 semanas ( $p < 0.00$ ), este resultado indica una tendencia descendente en la concentración de glucosa al aumentar la edad, como se observa en la figura 30.

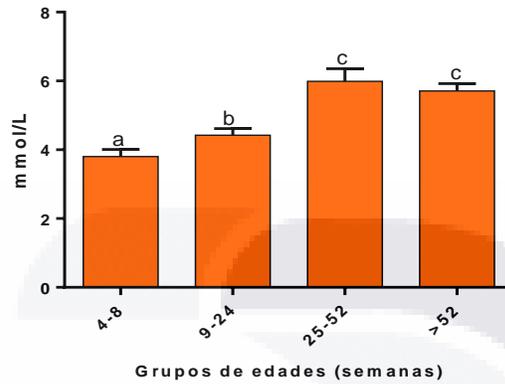


**Figura 30. Concentración de glucosa en suero sanguíneo**

Se muestra la media y el error estándar de cada uno de los diferentes grupos de edades; (I)  $5.1 \pm 0.2$  mmol/L, (II)  $5.1 \pm 0.1$  mmol/L, (III)  $4.6 \pm 0.3$  mmol/L y (IV)  $4.3 \pm 0.1$  mmol/L; en donde los cachorros alcanzaron los valores de adultos a partir de las 25 a 52 semanas de edad.

Acercas de la concentración de urea se observó que fue significativamente menor en el grupo I de cachorros de 4 a 8 semanas de edad a diferencia de los grupos

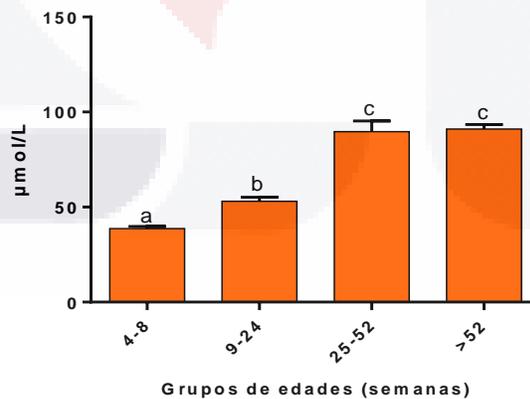
II, III y IV ( $p 0.00 < 0.05$ ). Igualmente, el grupo II de 9 a 24 semanas de edad mostró una concentración menor a la de los grupos III y IV ( $p 0.00 < 0.05$ ). A partir de las 25 semanas de edad los valores fueron similares a los de los adultos (figura 31).



**Figura 31. Concentración de urea en suero sanguíneo**

La media y el error estándar de cada uno de los diferentes grupos de edades fue: (I)  $3.8 \pm 0.2$  mmol/L, (II)  $4.4 \pm 0.1$  mmol/L, (III)  $5.9 \pm 0.3$  mmol/L y (IV)  $5.7 \pm 0.2$  mmol/L, donde se observa una tendencia a incrementar la concentración de urea en relación a la edad.

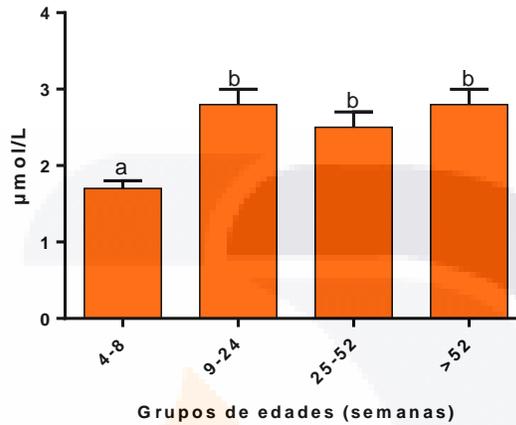
En relación a la concentración de creatinina sérica se observó una tendencia a incrementar de acuerdo con la edad (figura 32), en el grupo I de cachorros de 4 a 8 semanas la creatinina fue menor que la concentración de los grupos II, III y IV ( $p 0.00 < 0.05$ ); también la creatinina del grupo II de cachorros de 9 a 24 semanas fue menor que la de los grupos III y IV ( $p 0.00 < 0.05$ ).



**Figura 32. Concentración de creatinina en suero sanguíneo**

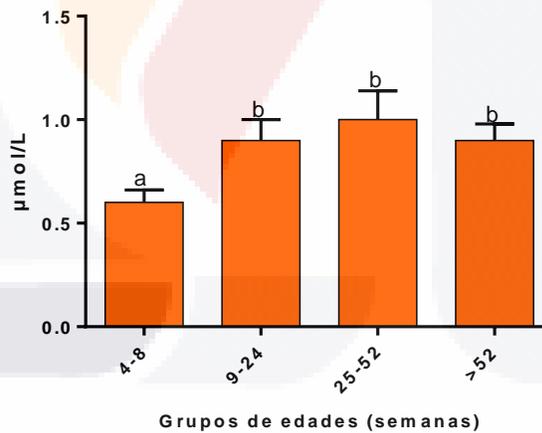
Se puede apreciar que los valores de creatinina fueron similares a los de adultos hasta las 25 semanas de edad; además se muestra la media y el error estándar de cada grupo; (I)  $38.6 \pm 1.2$  µmol/L, (II)  $53 \pm 2.1$  µmol/L, (III)  $89.6 \pm 5.5$  µmol/L y (IV)  $91 \pm 2.4$  µmol/L.

Durante el análisis de la concentración de la bilirrubina total y directa se observó que en el grupo I de cachorros de 4 a 8 semanas de edad, esta fue menor que en los cachorros de 9 a 52 semanas y los adultos mayores a 52 semanas de edad ( $p\ 0.00 < 0.05$ ) como se observa en la figura 33 y 34.



**Figura 33. Concentración de bilirrubina total en suero sanguíneo**

A partir de las 9 semanas de edad la concentración de bilirrubina total es similar a la de los adultos, además, se observa la media y el error estándar de cada grupo; (I)  $1.7 \pm 0.1\ \mu\text{mol/L}$ , (II)  $2.8 \pm 0.2\ \mu\text{mol/L}$ , (III)  $2.5 \pm 0.2\ \mu\text{mol/L}$  y (IV)  $2.8 \pm 0.2\ \mu\text{mol/L}$ .



**Figura 34. Concentración de bilirrubina directa en suero sanguíneo**

Se puede observar la concentración de bilirrubina directa en los diferentes grupos de edad con su media y error estándar; (I)  $0.6 \pm 0.06\ \mu\text{mol/L}$ , (II)  $0.9 \pm 0.1\ \mu\text{mol/L}$ , (III)  $1 \pm 0.1\ \mu\text{mol/L}$  y (IV)  $0.9 \pm 0.08\ \mu\text{mol/L}$ , en donde, a partir de las 9 semanas de edad la concentración es similar a la de los adultos.

**Cuadro 1919. Valores de referencia por grupos de edades.**

Analito	Distribución	Grupo I de 4 a 8 semanas (n 60)		Grupo II de 9 a 24 semanas (n 60)		Grupo III de 25 a 52 semanas (n 60)		Grupo IV de > 52 semanas (n 60)	
		Media (SD)	Mín. – Máx. IR (90 % IC)	Media (SD)	Mín. – Máx. IR (90 % IC)	Media (SD)	Mín. – Máx. IR (90 % IC)	Media (SD)	Mín. – Máx. IR (90 % IC)
		Mediana		Mediana		Mediana		Mediana	
<b>AST</b> (U/L)	G	39.1 (10.8) <sup>a</sup> 40	19 – 63 (17 – 61)	39.3 (8.7) <sup>a</sup> 38.5	21 – 58 (22 – 57)	37.1 (11.6) <sup>a</sup> 38	12 – 57 (12 – 62)	36 (9.7) <sup>a</sup> 36	12 – 54 (16 – 55)
<b>ALT</b> (U/L)	G	24.9 (7.4) <sup>a</sup> 25	10 – 40 (10 – 40)	32 (9.1) <sup>b</sup> 31	14 – 55 (14 – 51)	36.2 (7.9) <sup>b</sup> 36	26 – 48 (19 – 53)	43.4 (13.1) <sup>c</sup> 41.5	21 – 70 (17 – 70)
<b>GGT</b> (U/L)	NG	5.1 (1.8) <sup>a</sup> 5	3 – 9 (2 – 10)	5 (1.3) <sup>a</sup> 5	2 – 8 (2 – 8)	5.4 (1.9) <sup>a,b</sup> 6	2 – 9 (1 – 9)	6 (2.1) <sup>b</sup> 6	2 – 10 (3 – 10)
<b>LDH</b> (U/L)	NG	213.6 (154) <sup>a</sup> 162.5	44 – 588 (38 – 651)	68.6 (30.5) <sup>b</sup> 66	24 – 140 (24 – 140)	63.2 (32) <sup>b,c</sup> 62	13 – 126 (0 – 132)	47.2 (19.7) <sup>c</sup> 48	8 – 81 (7 – 87)
<b>FAS</b> (U/L)	NG	208.5 (72.4) <sup>a</sup> 184.5	112 – 391 (98 – 387)	186.8 (37.1) <sup>a</sup> 184	110 – 266 (111 – 263)	85.3 (36.8) <sup>b</sup> 90	32 – 140 (7 – 164)	51.4 (23.2) <sup>c</sup> 45	15 – 113 (18 – 113)
<b>Colesterol</b> (mmol/L)	G	4.3 (2.2) <sup>a</sup> 3.3	1.6 – 9.6 (1.7 – 10.7)	5.5 (1.5) <sup>b</sup> 5	2.8 – 8.3 (2 – 8.2)	4.8 (1.2) <sup>b</sup> 4.6	2.8 – 7.4 (2.4 – 7.3)	4.7 (0.8) <sup>b</sup> 4.7	2.8 – 6.5 (3 – 6.3)
<b>Triglicéridos</b> (µmol/L)	G	0.3 (0.1) <sup>a</sup> 0.3	0.2 – 0.5 (0.1 – 0.5)	0.5 (0.1) <sup>b</sup> 0.5	0.2 – 0.7 (0.2 – 0.7)	0.5 (0.2) <sup>b</sup> 0.5	0.2 – 0.8 (0.1 – 0.9)	0.5 (0.1) <sup>b</sup> 0.5	0.2 – 0.9 (0.2 – 0.8)
<b>Proteínas totales</b> (mg/L)	NG	46.4 (6.2) <sup>a</sup> 44.5	37.5 – 57 (36 – 62)	50.7 (6.4) <sup>b</sup> 50.5	39.5 – 62.5 (38 – 64)	57.5 (8.7) <sup>c</sup> 54	46 – 76 (36 – 76)	62.2 (8.2) <sup>d</sup> 61.5	43.5 – 81 (46 – 79)
<b>Albúmina</b> (mg/L)	G	25.1 (4) <sup>a</sup> 25	15 – 33 (17 – 33)	28.4 (4) <sup>a</sup> 28	21 – 37.5 (20 – 36)	31.2 (4.3) <sup>b</sup> 32	25 – 40 (22 – 40)	31.6 (4.7) <sup>c</sup> 31.3	22 – 42.5 (22 – 41)
<b>Glucosa</b> (mmol/L)	G	5.1 (1) <sup>a</sup> 5.1	2.9 – 7 (3 – 7.2)	5.1 (0.9) <sup>a</sup> 5.1	3 – 7.3 (3.4 – 6.9)	4.5 (1) <sup>a,b</sup> 4.3	2.7 – 5.9 (2.3 – 6.6)	4.3 (1.1) <sup>b</sup> 4.1	1.8 – 6.6 (2.1 – 6.5)
<b>Urea</b> (mmol/L)	G	3.8 (1.2) <sup>a</sup> 3.3	2.1 – 6.7 (1.9 – 6.9)	4.4 (1.3) <sup>b</sup> 4.3	1.5 – 7.2 (1.7 – 7.2)	6 (1.7) <sup>c</sup> 5.9	3 – 8.5 (2.5 – 9.5)	5.7 (1.7) <sup>c</sup> 5.8	2.5 – 9.6 (2.6 – 9.3)
<b>Creatinina</b> (µmol/L)	G	38.7 (7) <sup>a</sup> 38	28.3 – 54 (24 – 53)	53 (14.6) <sup>b</sup> 49.5	31.4 – 93.7 (31 – 90)	89.7 (25.6) <sup>c</sup> 92.8	38 – 127.3 (35 – 144)	91 (19.7) <sup>c</sup> 92.6	49.5 – 133.5 (51 – 131)
<b>Bilirrubina total</b> (µmol/L)	G	1.7 (0.3) <sup>a</sup> 1.7	1 – 2.1 (1.1 – 2.3)	2.8 (1.2) <sup>b</sup> 2.7	0.3 – 5.6 (0.2 – 5.3)	2.5 (0.9) <sup>b</sup> 2.3	0.9 – 4.3 (0.6 – 4.4)	2.8 (1.3) <sup>b</sup> 2.7	0.3 – 5.9 (0.4 – 5.6)
<b>Bilirrubina directa</b> (µmol/L)	NG	0.6 (0.4) <sup>a</sup> 0.5	0.2 – 1.4 (0.1 – 1.6)	0.9 (0.7) <sup>b</sup> 0.7	0 – 2.7 (0 – 2.7)	1 (0.6) <sup>b</sup> 0.9	0.2 – 2.2 (0 – 2.4)	0.9 (0.6) <sup>b</sup> 0.9	0 – 2.3 (0 – 2.5)

IR indica intervalo de referencia; IC, intervalo de confianza; SD, desviación estándar, G, Gaussiana; NG, no Gaussiana; los grupos que no comparten una letra son diferentes de manera significativa (a, b, c, d).

## 5. DISCUSION

En este estudio se observó el efecto que tiene el género y la edad sobre algunos de los parámetros bioquímicos y se demostraron diferencias significativas al comparar las variables.

En relación al género no se observaron diferencias significativas en AST, ALT, GGT, LDH, FAS, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, glucosa, urea, creatinina, bilirrubina total y bilirrubina directa. Esto coincide con estudios previos (Altunok y *col.*, 2001; Castellanos y Castellanos, 2010; Pasquini y *col.*, 2008). Sin embargo, algunos otros autores reportan diferencias en función al género, en algunos parámetros bioquímicos como la glucosa, colesterol, proteínas totales, albúmina, aminotransferasas y creatinina (Cinar y *col.*, 2010; Dunlop y *col.*, 201; Cortés, Grandez y Hung, 2014). Asimismo, no se observaron diferencias significativas en los resultados de AST con respecto a la edad, esto corresponde con lo investigado por otros autores (Mundim y *col.*, 2007; Misbach y *col.*, 2014; Rortveit y *col.*, 2015).

En este estudio se observó una tendencia a incrementar con la edad la actividad enzimática de ALT; al ser menor en cachorros de 4 a 52 semanas de edad en comparación con los adultos mayores a 52 semanas de edad. El efecto de la edad sobre esta enzima concuerda con algunos estudios realizados en perros de diferentes edades (Harper y *col.*, 2003; Mundim y *col.*, 2007; Jangsangthong y *col.*, 2012). Mientras que otras investigaciones mencionan lo contrario (Rosset y *col.*, 2012; Rortveit y *col.*, 2015). Estos cambios en la actividad de ALT se deben a variaciones fisiológicas relacionadas con la edad, la acción hormonal y las fases reproductivas (gestación, lactancia) (Mundim y *col.*, 2007). Además, es importante mencionar que durante la gestación, la circulación placentaria de la madre apoya el sistema hepatobiliar funcionalmente inmaduro del feto. En la mayoría de los perros, el cierre funcional del conducto venoso se produce gradualmente durante el segundo y tercer día después del nacimiento. Mientras que el cierre morfológico completo del conducto que se produce cuando este se atrofia, se establece entre el primer y tercer mes después del nacimiento (Center, 2011). A pesar de la temprana diferenciación embriogénica del hígado, muchas de sus funciones metabólicas están desarrolladas de manera incompleta al nacer. El hígado fetal tiene una menor capacidad de gluconeogénesis, almacenamiento de glucógeno, metabolismo del ácido biliar, procesos de desintoxicación y eliminación, haciéndolo más susceptible a toxinas e infecciones

transplacentarias y posnatales que pueden no tener consecuencias en adultos (Alef y *col.*, 2008).

La actividad enzimática de la LDH también mostro un efecto asociado con la edad, en cachorros de 4 a 8 semanas la actividad fue muy superior en comparación con cachorros de 9 a 52 semanas y adultos mayores a 52 semanas de edad. Este hallazgo se relaciona con una tendencia a disminuir su actividad con el crecimiento; además se ha encontrado que los parámetros bioquímicos tienden a ser constantes de las 28 a 36 semanas de edad (Uchiyama y *col.*, 1985). Los aumentos tempranos de LDH probablemente reflejan un traumatismo muscular asociado con el parto (Center, 2011). Sin embargo, la información acerca de este analito es muy limitada, pocos estudios incluyen esta enzima dentro de sus investigaciones.

En los resultados de la GGT se mostró una actividad enzimática inferior en cachorros de 4 a 24 semanas de edad con respecto a la actividad de cachorros de 25 a 52 semanas y en adultos mayores a 52 semanas de edad. Este efecto de la edad concuerda con algunos estudios previos (Cinar y *col.*, 2010). No obstante, otras investigaciones no encontraron diferencias significativas con respecto a la edad sobre esta enzima (Mundim y *col.*, 2007). Asimismo, debido a los altos niveles de FAS y GGT en el calostro, la evaluación de estas enzimas en suero o plasma puede proporcionar alguna información importante sobre el estado de transferencia pasiva en los cachorros, al usarse como un marcador de la adecuada ingestión de calostro; sin embargo, estas diferencias son de corta duración y se determinan dentro de las primeras 2 semanas de edad (Center, 2011; Gorman, 2011; von Dehn, 2014). Además la actividad enzimática de FAS y GGT también puede ser atribuido al origen placentario o intestinal (Center y *col.*, 1991).

Por otro lado, en los resultados de la FAS se observó que los cachorros de 4 a 24 semanas de edad tienen una actividad enzimática mayor en comparación con los que oscilan entre 25 semanas y mayores a 52 semanas de edad; no obstante, los cachorros de 25 a 52 semanas de edad también mostraron una actividad superior a los valores obtenidos en adultos mayores a 52 semanas. Otros estudios también han encontrado que los perros menores de 52 semanas de edad presentan valores elevados de FAS y una menor actividad enzimática en perros adultos (Castellanos y Castellanos, 2010). Numerosos reportes señalan que en los animales jóvenes hay un incremento de FAS respecto a los adultos, que se relaciona con el rápido crecimiento óseo y la actividad osteoblástica (Mundim y *col.*, 2007; Rosset y *col.*, 2012; Rortveit y *col.*, 2015). En otras investigaciones realizadas en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

diferentes razas de perros, han encontrado que la concentración máxima de FAS es en cachorros de 12 semanas de edad en todas las razas (Trangerud y *col.*, 2007). Este efecto es ligado a que el crecimiento de hueso disminuye poco a poco, por esta razón la actividad enzimática de FAS disminuye con la edad (Comazzi y *col.*, 2004). Mientras tanto, el incremento constante de la actividad sérica de FAS dentro de las 24 a 52 semanas de edad en los cachorros (3 veces más elevados que los valores de referencia de adultos) es resultado de la actividad de la isoenzima ósea de FAS derivada de los osteoblastos (Center, 2011). Como consecuencia, los valores de referencia para las enzimas hepáticas séricas son esenciales para interpretar los resultados del laboratorio de cachorros neonatales. Las diferencias en la actividad enzimática sérica entre neonatos y adultos reflejan la disminución de la capacidad funcional del hígado, el trauma asociado al parto, la ingestión de calostro, la maduración de las vías metabólicas, los efectos del crecimiento y la distribución de la masa, composición corporal y nutrición. La actividad de enzimática de FAS, AST, GGT y LDH aumenta notablemente durante las primeras 24 horas de vida (Center, 2011). Estas elevaciones suelen persistir en la primer y segunda semana de edad después del parto y disminuir a niveles moderados después de la segunda semana de edad. La actividad de FAS permanece por encima de los valores de referencia para adultos y por lo general se estabiliza en valores de adultos entre el primer y segundo año de vida (Center y *col.*, 1991).

Con respecto a la concentración de colesterol y triglicéridos se observó, que en los cachorros de 4 a 8 semanas de edad su concentración es inferior que la de individuos con edades entre 9 semanas y mayor a 52 semanas de edad. Otros autores han observado que a menudo los valores de referencia para colesterol y triglicéridos en cachorros, están por debajo de los propuestos para adultos (Kuhl y *col.*, 2000). Además, algunos autores han reportado que la concentración sérica de colesterol y triglicéridos es mayor en los cachorros menores a 8 semanas de edad, después del destete esta concentración disminuye gradualmente pero puede alcanzar un pico entre las 20 y 24 semanas de edad, después de las 24 semanas de edad generalmente estos valores disminuyen hasta alcanzar los niveles de adultos (von Dehn, 2014). También, se menciona que la edad y el género no resultan importantes en la evaluación de los valores de triglicéridos, sin embargo, estos factores tienen que ser considerados para interpretar correctamente los valores de colesterolemia (Pasquini y *col.*, 2008). Aunque, otros estudios no han encontrado diferencias en la concentración de triglicéridos con respecto a la edad; además, algunos reportan una concentración mayor de colesterol en animales jóvenes en comparación con los adultos

(Mundim y *col.*, 2007; Cinar y *col.*, 2010; Misbach y *col.*, 2014). Este resultado puede ser relacionado, debido a que la concentración de colesterol y triglicéridos es mayor hasta la primer y segunda semana de edad y después disminuye (Wright y *col.*, 2005). A medida que estos animales maduran, su concentración de colesterol y triglicéridos disminuye y no se observan diferencias en la concentración de lípidos y lipoproteínas de colesterol entre los jóvenes, adultos y ancianos. El descenso de colesterol plasmático, es probablemente debido a la mayor demanda de los tejidos durante el período de crecimiento, desarrollo y esteroidogénesis (Butterwick y *col.*, 2001). Además, el hígado neonatal tiene una menor capacidad para sintetizar triglicéridos y colesterol, debido a esto los neonatos dependen de los lípidos que son absorbidos a través de la dieta, por eso la lactancia es una fuente importante de lípidos en los recién nacidos (von Dehn, 2014). Sin embargo, en el meta-análisis no se encontró información de valores de referencia de triglicéridos en cachorros de 4 a 8 semanas de edad.

La concentración de proteínas totales y albúmina en el suero sanguíneo, mostro una relación dependiente de la edad, al ser menor la concentración en cachorros menores a 52 semanas en comparación con los resultados obtenidos en adultos; esto concuerda con algunos estudios previos (Castellanos y Castellanos, 2010; Rosset y *col.*, 2012; Rortveit y *col.*, 2015). Sin embargo, la literatura menciona que en los cachorros de hasta 4 semanas de edad, la concentración sérica de proteínas totales y albúmina está por debajo de los niveles normales de adultos; por otro lado, a las 8 semanas de edad, los cachorros tienen una concentración de albúmina dentro de los rangos normales de adultos, mientras que la concentración de proteínas totales aumenta gradualmente hasta alcanzar los niveles de adultos entre las 24 a 52 semanas de edad (Center, 2011). El incremento de las concentraciones séricas de proteínas totales al aumentar la edad se debe en parte, al aumento de las gammaglobulinas inducidas por las vacunas y al contacto directo con microorganismos ambientales. Mientras tanto, la baja concentración de albúmina en los animales menores a 24 semanas de edad se justifica por la mayor demanda de esta proteína, durante esta fase de crecimiento intenso (Mundim y *col.*, 2007).

Los resultados obtenidos durante este estudio en relación a la concentración de glucosa en sangre indican que en cachorros de 4 a 24 semanas de edad es mayor que la concentración en adultos mayores a 52 semanas de edad. Algunos investigadores que han desarrollado estudios en perros de diferentes edades observaron que la glucosa disminuye con el crecimiento (O'Brien y *col.*, 2014; Rortveit y *col.*, 2015). No obstante, otros estudios

no encontraron alguna relación de la concentración de glucosa sérica con la edad (Rosset y col., 2012). En general, la regulación glucémica de los cachorros neonatales es menor en comparación con la de los adultos (Center, 2011). Los estudios en adaptaciones metabólicas al nacer tanto en humanos como en cachorros revelan que en el neonato en ayunas, el hígado es capaz de mantener las concentraciones de glucosa en sangre a través de la glucogenólisis y la gluconeogénesis (O'Brien y col., 2014). Asimismo, la incapacidad de un cachorro para recuperarse rápidamente de la hipoglucemia o la hiperglucemia puede atribuirse a su insensibilidad a la insulina endógena y a la baja respuesta de hormonas contrarreguladoras (epinefrina y cortisol) (Center, 2011). Además, los neonatos tienen una deficiencia relativa de fuentes de energía alternativas (tales como depósitos de grasa, aminoácidos gluconeogénicos) en comparación con los adultos. Por lo tanto, mantener la euglucemia es vital para el estado neurológico neonatal. Aunque la regulación de la glucosa mejora con la edad, los cachorros de hasta 16 semanas de edad deben considerarse predispuestos a la hipoglucemia cuando están anoréxicos o deshidratados (von Dehn, 2014).

En la concentración de urea en suero sanguíneo se obtuvo como resultado una menor concentración en cachorros de 4 a 24 semanas de edad y a partir de las 25 semanas de edad la concentración de urea es similar a la de los adultos mayores a 52 semanas de edad. Este resultado de la concentración de urea relacionado con la edad, concuerda con estudios previos (Mundim y col., 2007; O'Brien y col., 2014; Rosset y col., 2012). No obstante, otras investigaciones no encontraron diferencias en relación a la edad en la concentración de urea (Cinar y col., 2010; Rortveit y col., 2015). Este incremento puede ser debido a su mayor metabolismo de proteínas; puesto que, estos animales están en fase de crecimiento (Mundim y col., 2007). Por otro lado, la autorregulación del flujo sanguíneo renal (RBF) y la tasa de filtración glomerular (TFG) en cachorros neonatales parece ser relativamente ineficiente para responder a cambios rápidos en la presión arterial sistémica. Al nacer, la presión arterial es baja (50-60 mm Hg); durante la maduración renal, el aumento de la presión sanguínea y la disminución de la resistencia vascular resultan en un aumento de la TFG y RBF. En el perro adulto, el sistema renina-angiotensina es un importante mecanismo regulador; sin embargo, en el neonato RBF está directamente correlacionado con la presión arterial y no parece ser alterado por la inhibición de la angiotensina hasta aproximadamente 6 semanas de edad (Grundy, 2006). La TFG aumenta 7 veces durante el primer mes de vida en cachorros neonatos. Del mismo modo, el RBF aumenta casi 4

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

veces durante el mismo período. Tanto la TGF como el RBF continúan aumentando después de la cuarta semana de edad, alcanzando los valores adultos aproximadamente 10 semanas después del nacimiento (Kruger y *col.*, 2001). Además, los cachorros recién nacidos tienen una menor capacidad para concentrar o diluir la orina en respuesta a los cambios en el volumen del líquido extracelular. También, se ha demostrado que la concentración sérica de urea es menor en animales jóvenes en comparación con los adultos. Cabe destacar que inicialmente la urea se encuentra dentro de los valores de adultos, pero luego disminuye entre las 2 y 12 semanas de edad, antes de comenzar a aumentar hasta los valores de adultos aproximadamente a las 24 semanas de edad. Se han propuesto algunas razones para explicar la baja concentración de urea en cachorros que se han atribuido a un aumento de la síntesis de proteínas como resultado de la influencia de la hormona del crecimiento o el aumento del estado metabólico con el incremento de la TFG (Gorman, 2011).

Por otro lado, durante el análisis de este estudio, se mostró una diferencia evidente en la concentración de creatinina en relación a la edad; en cachorros de 4 a 8 semanas su concentración es más baja que la concentración de individuos con edades entre 9 semanas y mayores a 52 semanas. En pocas palabras se observó una tendencia a incrementar con la edad y a partir de las 25 semanas de edad la concentración de creatinina es similar a la concentración de los adultos; este efecto concuerda con algunos estudios, además se menciona que la creatinina disminuye desde el primer día de nacido hasta las 8 semanas de edad y a partir de ésta se estabiliza para luego incrementar de forma gradual hasta alcanzar los valores de adulto hacia el primer año de vida (Braun y *col.*, 2003; Mundim y *col.*, 2007; Rosset y *col.*, 2012; Rortveit y *col.*, 2015). La concentración de creatinina sérica suele ser más baja en cachorros que en adultos, debido a que la TGF es más alta en los cachorros y también porque tienen una menor masa muscular hasta las 24 semanas de edad; después de esto la creatinina se mantiene estable hasta los 8 a 9 años de edad y a partir de ahí comienza a decrecer (Heine y Lefebvre, 2007; Mundim y *col.*, 2007). Además, en los cachorros recién nacidos se produce una disminución progresiva de la concentración de creatinina sérica hasta las 4 y 5 semanas de edad seguida de un ligero aumento entre las 7 y 8 semanas de edad; después los niveles de creatinina aumentan moderadamente hasta las 52 semanas de edad (Gorman, 2011). Como consecuencia, el médico debe tener en cuenta que la inmadurez de la función glomerular y tubular tiene implicaciones clínicas significativas con respecto al manejo terapéutico de los cachorros; debido a que están más

predispuestos a una deshidratación por sus mayores requerimientos de agua y por su menor capacidad para concentrar la orina y soportar la diuresis osmótica (Johnston y *col.*, 2001).

En relación a la bilirrubina total y directa, éste estudio obtuvo como resultado una concentración inferior en cachorros de 4 a 8 semanas de edad y una concentración superior en cachorros de 9 a 52 semanas y en adultos mayores a 52 semanas de edad. Sin embargo, algunos estudios no encontraron diferencias significativas en relación a la edad en la concentración de bilirrubina (Castellanos y Castellanos, 2010; Misbach y *col.*, 2014; Rortveit y *col.*, 2015). Mientras que otras investigaciones observaron una mayor concentración de bilirrubina en perros jóvenes en comparación con los adultos (Cinar y *col.*, 2010).. La capacidad de captación, conjugación y excreción hepática de la bilirrubina en la etapa fetal, neonatal y juvenil de los perros es notablemente madura en comparación con los humanos y varios primates no humanos. Además, en la etapa fetal se tiene una concentración esencial de enzimas que conjugan a la bilirrubina. Algunos cachorros tienen valores individuales de bilirrubina total ligeramente elevados durante las primeras 72 horas de vida, esta se normaliza en 2 semanas, sin embargo, la etiología de esta elevada concentración de bilirrubina en neonatos no se ha aclarado (Center, 2011). Es importante señalar en el meta-análisis solo se encontró información de bilirrubina directa en adultos

## 6. CONCLUSION

Se encontraron valores más bajos de proteínas totales, albúmina, colesterol, triglicéridos, ALT, GGT, urea y creatinina en cachorros; mientras que la FAS, LDH y glucosa fueron mayores en cachorros que en adultos. Además, se observó que la creatinina en adultos es mayor en machos que en hembras.

Por lo tanto, es importante destacar que algunos analitos bioquímicos se ven influenciados por la edad y el género; por esta razón, es importante contar con una tabla de valores de referencia comparativa y se debe considerar el efecto de la edad y el género al momento de interpretar los resultados clínicos.



## GLOSARIO

**Alanina aminotransferasa (ALT).** Enzima involucrada en la transferencia de aminoácidos. Se utiliza para evaluar daño hepático, principalmente.

**Albúmina.** Proteína que se encuentra en gran proporción en el plasma sanguíneo, siendo la principal proteína de la sangre; es sintetizada en el hígado.

**Analito.** Es un componente (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra. Es una especie química cuya presencia o contenido se desea conocer, identificable y cuantificable, mediante un proceso de medición química.

**Aspartato aminotransferasa (AST).** Enzima presente normalmente en el suero y en ciertos tejidos corporales, que actúa sobre la transferencia intermolecular de un grupo amino desde el ácido aspártico al ácido alfaetoglutarico, para formar ácido glutámico y ácido oxaloacético.

**Azotemia.** Acumulación en sangre de productos nitrogenados de desecho no proteicos. Según su origen, la azotemia puede ser: prerrenal (consecuencia de una reducción en la perfusión renal, como ocurre en casos de deshidratación o fallo cardíaco), renal (debida a la existencia de una alteración de la función de los riñones) y post-renal (cuando existe una alteración en la eliminación de orina del organismo; por ejemplo, en casos de obstrucción del flujo de orina o uroabdomen).

**Bilirrubina.** Pigmento amarillento que se encuentra en la bilis, un líquido producido por el hígado.

**Bioquímica sanguínea.** Serie de exámenes clínico para conocer el estado del metabolismo del organismo.

**Colesterol.** Es un lípido esteroide (esterol), molécula de ciclopentanoperhidrofenantreno (esterano), constituida por 4 carboxilos condensados; se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo de los vertebrados. Es una sustancia esencial para crear la membrana plasmática que regula la entrada y salida de sustancias en la célula.

**Creatinina.** Es un compuesto orgánico generado a partir de la degradación de la creatina (que es un nutriente útil para los músculos). Se trata de un producto de desecho del metabolismo normal de los músculos que habitualmente produce el cuerpo en una tasa muy constante (dependiendo de la masa de los músculos), y que normalmente filtran los riñones excretándola en la orina.

**Diagnóstico clínico.** Es el procedimiento por el cual se identifica una enfermedad, entidad nosológica, síndrome o cualquier estado patológico o de salud.

**Enfermedad.** Alteración o desviación del estado fisiológico en una o varias partes del organismo, por causas en general conocidas, manifestada por síntomas y unos signos característicos, y cuya evolución es más o menos previsible.

**Espectrofotómetro.** Es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

**Espectrofotometría.** Es la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe o transmite un sistema químico en función de la longitud de onda; es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y bioquímicas.

**Examen clínico.** Es el conjunto de maniobras que realiza un médico para obtener información sobre el estado de salud de un paciente.

**Fosfatasa alcalina (FAS).** Enzima hidrolasa responsable de catalizar la remoción de un grupo fosforil de varios tipos de moléculas como nucleótidos, proteínas y alcaloides. Los tejidos con cantidades más altas de FAS abarcan el hígado, las vías biliares y los huesos.

**Gamma-glutamil transferasa (GGT).** Enzima que cataliza la transferencia de una porción de gamma-glutamil de glutatión a un aceptor que puede ser un aminoácido, un péptido o una molécula de agua. Juega un papel importante en el ciclo de la gamma-glutamil, una vía para la síntesis y degradación de glutatión y desintoxicación de drogas y xenobióticos.

**Glucosa.** Es un monosacárido con fórmula molecular  $C_6H_{12}O_6$ . Es una hexosa, es decir, contiene 6 átomos de carbono, y es una aldosa, esto es, el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula (es un grupo aldehído). Es la fuente primaria de síntesis de energía de las células, mediante su oxidación catabólica, y es el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón y el glucógeno.

**Hemólisis.** Es el fenómeno de la desintegración de los eritrocitos (glóbulos rojos o hematíes). El eritrocito carece de núcleo y orgánulos, por lo que no puede repararse y muere cuando se desgasta.

**Hepatocito.** Es la célula propia del hígado y que forma su parénquima.

**Idoneidad.** Reunión de las condiciones necesarias para desempeñar una función

**Interpretación.** Explicar o declara el sentido de algo.

**Laboratorio.** Es un lugar dotado de los medios necesarios para realizar investigaciones, experimentos, prácticas y trabajos de carácter científico, tecnológico o técnico; está equipado con instrumentos de medida o equipos con que se realizan experimentos, investigaciones o prácticas diversas, según la rama de la ciencia a la que se dedique.

**Lactato deshidrogenasa (LDH).** Enzima que cataliza una reacción redox, en la que el piruvato es reducido a lactato gracias a la oxidación de NADH a NAD<sup>+</sup>.

**Lipemia.** Cuando se aplica el término LIPEMIA a una muestra de sangre, se refiere a una turbidez claramente visible (blanquecina o lechosa) causada por una elevada concentración de lípidos. Esta lipemia se debe al lípido triglicérido, presente en la forma de lipoproteína, en su mayoría quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad.

**Longitud de onda.** Es la distancia real que recorre una perturbación (una onda) en un determinado intervalo de tiempo. Ese intervalo de tiempo es el transcurrido entre dos máximos consecutivos de alguna propiedad física de la onda.

**Metabolismo.** Suma de todos los procesos químicos y físicos que tienen lugar en un organismo; en sentido más estricto, cambios físicos y químicos que sufre una sustancia en un organismo. Incluye la incorporación y distribución en el organismo de los componentes químicos, los cambios (biotransformaciones sufridas) y la eliminación de los compuestos y de sus metabolitos.

**Metabolito.** Cualquier producto intermedio o final resultante del metabolismo.

**Nefrona.** Es una unidad estructural y funcional básica del riñón, responsable de la purificación de la sangre. Su principal función es filtrar la sangre para regular el agua y las sustancias solubles, reabsorbiendo lo que es necesario y excretando el resto como orina. Está situada principalmente en la corteza renal.

**Nitrógeno ureico en sangre (BUN).** Es la cantidad de nitrógeno circulando en forma de urea en el torrente sanguíneo. Los valores de nitrógeno ureico en sangre pueden ser indicativos de la función renal.

**Orquiectomía.** Es el término que se usa en medicina para designar la extirpación quirúrgica, total o parcial, de uno o de los dos testículos

**Ovariohisterectomía.** Es un procedimiento quirúrgico que consiste en retirar del organismo los ovarios y el útero. Este procedimiento es una de las cirugías más frecuentes en la práctica diaria de la medicina veterinaria.

**Proceso patológico.** Está compuesto de 4 aspectos principales: etiología, patogenia, cambios morfológicos (alteraciones morfológicas) y manifestaciones clínicas (alteraciones funcionales).

**Proteína.** Una macromolécula biológica compuesta de un arreglo lineal de aminoácidos unidos por uniones peptídicas; las funciones de las proteínas en los procesos biológicos incluyen catálisis, transporte y almacenaje, movimiento, soporte mecánico, protección inmune, la generación y transmisión de impulsos nerviosos y el control del crecimiento y diferenciación.

**Sangre.** Es un tejido conectivo líquido, que circula por capilares, venas y arterias de todos los vertebrados. Su color rojo característico es debido a la presencia del pigmento hemoglobínico contenido en los glóbulos rojos.

**Suero sanguíneo.** Es el componente de la sangre resultante tras permitir la coagulación de ésta y eliminar el coágulo resultante. Es equivalente al plasma sanguíneo, pero sin las proteínas involucradas en la coagulación (fibrinógeno en su mayor parte). El suero es útil en la identificación de algunos analitos en los que no se requiere de la intervención de un anticoagulante, ya que este podría interferir en el resultado alterándolo.

**Tratamiento.** Es el conjunto de medios de cualquier clase cuya finalidad es la curación o el alivio de las enfermedades o síntomas.

**Triglicéridos.** Es un tipo de glicérido que pertenece a la familia de los lípidos. Este glicérido se forma por la esterificación de los 3 grupos OH de los gliceroles por diferentes o igual tipo de ácidos grasos, concediéndole el nombre de Triglicérido. Son transportados en todo el organismo teniendo como función suministrar energía o para ser almacenados por periodos largos como grasa, siendo una fuente de energía a largo plazo más eficiente que los carbohidratos.

**Urea.** Es un compuesto químico cristalino e incoloro descubierto por Friedrich Wöhler; de fórmula  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ . Se encuentra abundantemente en la orina y en la materia fecal. Es el principal producto terminal del metabolismo de las proteínas.

**Valores de referencia.** Resultado analítico obtenido de un individuo que cumple con ciertas características.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alef, M., von Praun, F., y Oechtering, G., 2008. Is routine pre-anaesthetic haematological and biochemical screening justified in dogs? *Vet Anaesth Analg*, 35(2), 132-140. doi:10.1111/j.1467-2995.2007.00364.x
- Aleman, C. L., Noa, M., Mas, R., Rodeiro, I., Mesa, R., Menendez, R., . . . Hernandez, C., 2000. Reference data for the principal physiological indicators in three species of laboratory animals. *Laboratory Animals*, 34(4), 379-385. doi:10.1258/002367700780387741
- Altunok, V., Maden, M., Nizamlioglu, M., y Togan, J., 2001. Some of the frequently used biochemical values of serum and plasma in three different populations of Anatolian shepherd dog. *Rev Méd Vét*, 3(152), 261-264.
- Anderson, N. V., y Taibo, R. A., 1999. *Gastroenterología veterinaria* (2 ed.). Buenos Aires: Inter-Médica.
- Bain, P. J., 2011. Liver. In L. KS (Ed.), *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicina clinical pathology* (5th ed., pp. 211-230). Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Baral, R. M., Dhand, N. K., Freeman, K. P., Krockenberger, M. B., y Govendir, M., 2014. Biological variation and reference change values of feline plasma biochemistry analytes. *J Feline Med Surg*, 16(4), 317-325. doi:10.1177/1098612x13508770
- Barrios, M., Sandoval, E., Sánchez, D., Borges, J. A., Bastardo, Y., Márquez, O., y Dávila, L. D., 2013. Valores de referencia de diferentes parámetros bioquímicos en vacunos mestizos de doble propósito del valle de Aroa, estado Yaracuy. *Revista Mundo Pecuario*, 9(1), 25-30.
- Batholomew, R., y Delaney, A., 1964. Spectrophotometric studies and analytical applications of the protein error of some pH indicators. *Proc. Australian Assoc. Clin. Biochem.*, 1, 64.
- Bergmeyer, H. U., 1980. IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes: Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). *Clinica Chimica Acta*, 105(1), 147-154. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981\(80\)90105-9](http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981(80)90105-9)
- Birchard, S. J., y Sherding, G. R., 2006. *Manual of small animal practice* (S. Louis Ed. 3rd ed.): Saunders.
- Bonagura, J. D., Kirk, R. W., Samperio, J. O., Gómez, J. P., Martínez, M. E. A., y Osborne, C. A., 2001. *Terapéutica veterinaria de pequeños animales* (3 ed. Vol. 2): McGraw-Hill Interamericana.

- Bonagura, J. D., y Twedt, D. C., 2013. *Kirk's Current Veterinary Therapy XV* (Saunders Ed.). Philadelphia: Elsevier Health Sciences.
- Boord, J. B., Graber, A. L., Christman, J. W., y Powers, A. C., 2001. Practical management of diabetes in critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med*, 164(10 Pt 1), 1763-1767. doi:10.1164/ajrccm.164.10.2103068
- Bouda, J., y Núñez Ochoa, L., 2007. *Patología Clínica Veterinaria*. México, D.F.: UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Bowers, G. N., Bergmeyer, H. U., Horder, M., y Moss, D. W., 1979. Approved recommendation (1978) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. *Clinica Chimica Acta*, 98(1-2), 163-174. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981\(79\)90176-1](http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981(79)90176-1)
- Boyle, R., y Conesa, L. M., 2011. Ensayos para una historia natural de la sangre humana (Vol. 37): Publicacions de la Universitat Jaume I.
- Braun, J.-P., y Lefebvre, H. P., 2008. Chapter 16 - Kidney Function and Damage. In J. J. K. W. H. L. Bruss (Ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals (Sixth Edition)* (pp. 485-528). San Diego: Academic Press.
- Braun, J. P., Lefebvre, H. P., y Watson, A. D. J., 2003. Creatinine in the dog: A review. *Vet Clin Pathol*, 32(4), 162-179. doi:10.1111/j.1939-165X.2003.tb00332.x
- Brunch, S., 2003. Diagnostic test for the hepatobiliary system. In C. C. Nelson RW (Ed.), *Small animal internal medicine* (3rd ed., pp. 483-505). St. Louis, Missouri: Mosby.
- Bush, W., 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. España (Barcelona): Ediciones S.
- Butterwick, R. F., McConnell, M., Markwell, P. J., y Watson, T. D., 2001. Influence of age and sex on plasma lipid and lipoprotein concentrations and associated enzyme activities in cats. *Am J Vet Res*, 62(3), 331-336.
- Castellanos, R., y Castellanos, A., 2010. Estudio de los valores referenciales para bioquímica sérica en población canina de la Parroquia San José, Distrito Valencia, Estado Carabobo. *Revista electrónica de veterinaria*, 11(5), 1-20.
- Castellanos, R., Thielen, V., Luigui, M. A., y Torres, L. d. T., María Andreína Luigi, Luisa Torres., 2009. Influencia de la masa corporal sobre la concentración sérica de creatinina en perros adultos de la Parroquia San José, Municipio Valencia, Edo. Carabobo, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ*, XIX(1), 25-30.
- Center, S. A., 2011. The liver, biliary tract and exocrine pancreas. In M. E. Peterson y M. A. Kutzler (Eds.), *Small animal pediatrics: the first 12 months of life* (pp. 368-374). St Louis (MO): WB Saunders.

- Center, S. A., Randolph, J. F., ManWarren, T., y Slater, M., 1991. Effect of colostrum ingestion on gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activities in neonatal pups. *Am J Vet Res*, 52(3), 499-504.
- Cerioti, F., 2007. Prerequisites for Use of Common Reference Intervals. *The Clinical Biochemist Reviews*, 28(3), 115-121.
- Ceron, J. J., Martinez-Subiela, S., Hennemann, C., y Tecles, F., 2004. The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. *Vet J*, 167(3), 294-301. doi:10.1016/j.tvjl.2003.09.009
- Chapman, S. E., y Hostutler, R. A., 2013. A laboratory diagnostic approach to hepatobiliary disease in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 43(6), 1209-1225, v. doi:10.1016/j.cvsm.2013.07.005
- Cinar, M., Erat, S., Arıkan, S., Mamak, N., Ograk, Y. Z., y Güzel, M., 2010. Kangal Köpeklerinde Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Yas ve Cinsiyetin Etkisi. [Effect of Age and Gender on Some Biochemical Parameters of Anatolian Shepherd Dog]. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 7(2), 109-116.
- Comazzi, S., Pieralisi, C., y Bertazzolo, W., 2004. Haematological and biochemical abnormalities in canine blood: frequency and associations in 1022 samples. *Journal of Small Animal Practice*, 45(7), 343-349. doi:10.1111/j.1748-5827.2004.tb00246.x
- Cortadellas, O., 2010. Estadificación y manejo de la enfermedad renal crónica. Manual de nefrología y urología clínica canina y felina. In G. A. B. SL (Ed.), (pp. 161-177). Zaragoza.
- Cortadellas, O., y Fernández-del Palacio, M. J., 2012. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad renal cónica (ERC) en el perro y el gato. Parte: evaluación del paciente con ERC. *Clínica veterinaria pequeños animales*, 32(4), 215-223.
- Cortés, G., Grandez, R., y Hung, A., 2014. Valores hematológicos y bioquímicos séricos en la raza Perro sin Pelo del Perú. *Salud tecnol. vet.*, 2(2), 106-112. doi:<http://dx.doi.org/10.20453/stv.v2i2.2255>
- Craig, A. J., Seguela, J., Queau, Y., Murgier, P., Concordet, D., Fleeman, L. M., . . . Lefebvre, H. P., 2006. Redefining the reference interval for plasma creatinine in dogs: Effect of age, gender, body weight, and breed. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(3), 740-740.
- Cseh, S. B., 2003. Bioquímica clínica en medicina veterinaria: criterios a tener en cuenta en el laboratorio. *Revista argentina de producción animal*, 23(3-4), 177-185.
- Cunningham, J. G., y Klein, B. G., 2013. Fisiología veterinaria (5th ed.). Barcelona: Elsevier.
- Davidson, A. P., y Mas, T. R., 2007. Medicina de pequeños animales. Pediatría. In *Clínicas Veterinarias de Norteamérica* (Vol. 36, pp. 443). Barcelona (España): Elsevier Doyma, S.L. Masson.

- Demetriou, J. A., Drewes, P. A., y Gin, J. B., 1974. Principles and Technics. In H. Row (Ed.), *Clinical Chemistry* (2 ed., pp. 872- 873). Hagerstown MD.
- Díaz, F. H., y Ceroni da Silva, S., 2006. Introdução à bioquímica clínica veterinária (2 ed.). Biblioteca Setorial da Faculdade de Veterinária: UFRGS.
- Dunlop, M. M., Sanchez-Vazquez, M. J., Freeman, K. P., Gibson, G., Sacchini, F., y Lewis, F., 2011. Determination of serum biochemistry reference intervals in a large sample of adult greyhounds. *J Small Anim Pract*, 52(1), 4-10. doi:10.1111/j.1748-5827.2010.01008.x
- Ehrlich, P., y Zeitschr., 1884. *Analytical Chemistry*, 23, 275.
- Ettinger, S. J., y Feldman, E. C., 2010. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat* (E. Philadelphia Ed. 7 ed.): Elsevier Saunders.
- Farr, A. J., y Freeman, K. P., 2008. Quality control validation, application of sigma metrics, and performance comparison between two biochemistry analyzers in a commercial veterinary laboratory. *J Vet Diagn Invest*, 20(5), 536-544.
- Flatland, B., Freeman, K. P., Friedrichs, K. R., Vap, L. M., Getzy, K. M., Evans, E. W., y Harr, K. E., 2010. ASVCP quality assurance guidelines: control of general analytical factors in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol*, 39(3), 264-277. doi:10.1111/j.1939-165X.2010.00251.x
- Fossati, P., y Prencipe, L., 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*, 28(10), 2077-2080.
- Freeman, K. P., y Gruenwaldt, J., 1999. Quality control validation in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol*, 28(4), 150-155.
- Friedrichs, K. R., Harr, K. E., Freeman, K. P., Szladovits, B., Walton, R. M., Barnhart, K. F., y Blanco-Chavez, J., 2012. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet Clin Pathol*, 41(4), 441-453. doi:10.1111/vcp.12006
- Gay, R. J., McComb, R. B., y Bowers, G. N., Jr., 1968. Optimum reaction conditions for human lactate dehydrogenase isoenzymes as they affect total lactate dehydrogenase activity. *Clin Chem*, 14(8), 740-753.
- Geffre, A., Braun, J. P., Germain, C., Palanche, F., Kueper, R., y Trumel, C., 2008. Comparison of measurements of canine plasma glucose, creatinine, urea, total proteins, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase obtained with the APOLOWAKO and Vitros 250 analyzers. *Res Vet Sci*, 84(3), 354-360. doi:10.1016/j.rvsc.2007.07.001
- Geffré, A., Concordet, D., Braun, J.-P., y Trumel, C., 2011. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Vet Clin Pathol*, 40(1), 107-112. doi:10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x

- Gorman, M. E., 2011. Chapter 30 - Clinical Chemistry of the Puppy and Kitten A2 - Peterson, Michael E. In M. A. Kutzler (Ed.), *Small Animal Pediatrics* (pp. 259-275). Saint Louis: W.B. Saunders.
- Gossellin, J., Wren, J. A., y Sunderland, S. J., 2007. Canine obesity -- an overview. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, 1-10. doi:10.1111/j.1365-2885.2007.00863.x
- Grundy, S. A., 2006. Clinically Relevant Physiology of the Neonate. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 36(3), 443-459. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2005.12.002>
- Harper, E. J., Hackett, R. M., Wilkinson, J., y Heaton, P. R., 2003. Age-related variations in hematologic and plasma biochemical test results in Beagles and Labrador Retrievers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(10), 1436-1442. doi:10.2460/javma.2003.223.1436
- Harr, K. E., Flatland, B., Nabity, M., y Freeman, K. P., 2013. ASVCP guidelines: allowable total error guidelines for biochemistry. *Vet Clin Pathol*, 42(4), 424-436. doi:10.1111/vcp.12101
- Heine, R., y Lefebvre, H., 2007. Assessment of renal function. In G. G. W. M. Elliot J (Ed.), (2nd ed.). London: British Small Animal Veterinary Association.
- Henry, R. J., y Reed, A. H., 1974. Normal values and the use of laboratory results for the detection of disease. In H. a. Row (Ed.), *Clinical Chemistry. Principles and Techniques* (2nd ed., pp. 343-371). New York: Cannon DC, Winkelmann JW.
- Hilppo, M., 1986. Some haematological and clinical-chemical parameters of sight hounds (Afghan hound, saluki and whippet). *Nord Vet Med*, 38(3), 148-155.
- Hinchcliff, K. W., 1996. Performance failure in Alaskan sled dogs: biochemical correlates. *Res Vet Sci*, 61(3), 271-272.
- Ikeuchi, J., Yoshizaki, T., y Hirata, M., 1991. Plasma biochemistry values of young Beagle dogs. *The Journal of Toxicological Sciences*, 16(2), 49-59. doi:10.2131/jts.16.49
- Jaffe, M., 1886. Ueber den Niederschlag welchen Pikrinsäure in normalen Harn erzeugt und über eine neue reaction des Kreatinins. *Z Physiol Chem*, 10, 391-400.
- Jangsangthong, A., Suwanachat, P., Jaykum, P., Buamas, S., Kaewkongjan, W., y Buranasinsup, S., 2012. Effect of sex, age and strain on hematological and blood clinical chemistry in healthy canine. *Journal of Applied Animal Science*, 5(3), 25-38.
- Jensen, A. L., y Aaes, H., 1993. Critical differences of clinical chemical parameters in blood from dogs. *Res Vet Sci*, 54(1), 10-14.

- Jensen, A. L., Wenck, A., Koch, J., y Poulsen, J. S. D., 1994. Comparison of results of haematological and clinical chemical analyses of blood samples obtained from the cephalic and external jugular veins in dogs. *Research in Veterinary Science*, 56(1), 24-29. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0034-5288\(94\)90191-0](http://dx.doi.org/10.1016/0034-5288(94)90191-0)
- Johnston, S. D., Kustritz, M. V. R., y Olson, P. N. S., 2001. The neonate-from birth to weaning. *Canine and feline theriogenology*, 1, 146-167.
- Katayev, A., Balciza, C., y Seccombe, D. W., 2010. Establishing Reference Intervals for Clinical Laboratory Test Results Is There a Better Way? *American Journal of Clinical Pathology*, 133(2), 180-186. doi:10.1309/ajcpn5bmts1cdyp
- Keller, P., y Wall, M., 1982. [Plasma enzyme activity in the dog. Effects of age and sex]. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 124(2), 83-95.
- Kerseboom, J., 1689. Pintura de Robert Boyle. In O. t. Boyle (Ed.), <http://www.bbk.ac.uk/boyle/Issue4.html>. Gawthorpe Hall.
- Khan, S. A., Epstein, J. H., Olival, K. J., Hassan, M. M., Hossain, M. B., Rahman, K. B. M. A., . . . Desmond., 2011. Hematology and serum chemistry reference values of stray dogs in Bangladesh. *Open Veterinary Journal*, 1, 13-20.
- Kingsley, G., 1939. The determination of serum total protein, albumin, and globulin by the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 131, 197-200.
- Kingsley, G., 1942. The Direct Biuret Method for the Determination of Serum Proteins as Applied to Photoelectric and Visual Colorimetry. *J. Lab. Clin. Med*, 27, 840.
- Kley, S., Tschudi, P., Busato, A., y Gaschen, F., 2003. Establishing canine clinical chemistry reference values for the Hitachi® 912 using the International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) recommendations. *Comparative Clinical Pathology*, 12(2), 106-112. doi:10.1007/s00580-003-0479-x
- Konrad, J., Cupak, M., y Husak, S., 1980. Selected biochemical values of clinically healthy dogs. *Veterinarni Medicina*, 25(7), 413-422.
- Kraft, H., Schillinger, D., y de tr Carde Aparici, P., 1998. *Métodos de laboratorio clínico en medicina veterinaria de mamíferos domésticos*: Acribia.
- Kruger, J. M., Osborne, C. A., Lulich, J. P., Polzin, D. P., y Fitzgerald, S. D., 2001. Chapter 17 - The Urinary System A2 - Hoskins, Johnny D. In *Veterinary Pediatrics (Third Edition)* (pp. 371-401). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Kuhl, S., Mischke, R., Lund, C., y Gunzel-Apel, A. R., 2000. Reference values of chemical blood parameters for puppies during the first eight weeks of life. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 107(11), 438-443.

- Langston, C. E., 2011. Exámenes de laboratorio de la función renal. In *Elsevier Inc.*: Saunders.
- Laroute, V., Chetboul, V., Roche, L., Maurey, C., Costes, G., Pouchelon, J. L., . . . Lefebvre, H. P. (2005). Quantitative evaluation of renal function in healthy Beagle puppies and mature dogs. *Res Vet Sci*, 79(2), 161-167. doi:10.1016/j.rvsc.2004.11.011
- Lassen, E., 2004. Laboratory evaluation of the liver. In T. MA (Ed.), *Veterinary hematology and clinical chemistry* (pp. 355-375). Baltimore, Maryland: Lippincott Williams y Wilkins.
- Levy, J. K., Crawford, P. C., y Werner, L. L., 2006. Effect of age on reference intervals of serum biochemical values in kittens. *J Am Vet Med Assoc*, 228(7), 1033-1037. doi:10.2460/javma.228.7.1033
- Lumsden, J. H., Mullen, K., y McSherry, B. J., 1979. Canine hematology and biochemistry reference values. *Can J Comp Med*, 43(2), 125-131.
- Martínez, P. P., y Carvalho, M. B., 2010. Participação da excreção renal de cálcio, fósforo, sódio e potássio na homeostase em cães saudáveis e cães com doença renal crônica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30(10), 868-876. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010001000010>.
- McKenzie, E. C., Jose-Cunilleras, E., Hinchcliff, K. W., Holbrook, T. C., Royer, C., Payton, M. E., . . . Davis, M. S., 2007. Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *J Am Vet Med Assoc*, 230(10), 1486-1492. doi:10.2460/javma.230.10.1486
- Medaille, C., Trumel, C., Concordet, D., Vergez, F., y Braun, J. P., 2004. Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog: A 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine*, 51(3), 119-123. doi:10.1111/j.1439-0442.2004.00616.x
- Meinkoth, J. H., y Allison, R. W., 2007. Sample collection and handling: getting accurate results. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 37(2), 203-219, v. doi:10.1016/j.cvsm.2006.11.008
- Meyer, D. J., y Harvey, J. W., 2000. *El laboratorio en medicina veterinaria: interpretación y diagnóstico*: Inter-médica.
- Misbach, C., Chetboul, V., Concordet, D., Medaille, C., Gruet, P., Speranza, C., . . . Lefebvre, H. P., 2014. Basal plasma concentrations of routine variables and packed cell volume in clinically healthy adult small-sized dogs: effect of breed, body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. *Vet Clin Pathol*, 43(3), 371-380. doi:10.1111/vcp.12162
- Mischke, R., 1994. [Activity of coagulation factors II, V, VII and X in healthy dogs--dependence on age, sex and breed]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 107(9), 289-294.

- Mischke, R., Hanies, R., Lange, K., y Rivera Ramirez, P. A., 1996. [The effect of the albumin concentration on the relation between the concentration of ionized calcium and total calcium in the blood of dogs]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 103(6), 199-204.
- Mundim, A. V., Coelho, A. O., Hortêncio, S. M., Guimarães, E. C., y Espindola, F. S., 2007. Influence of age and sex on the serum biochemical profile of Doberman dogs in the growth phase. *Comparative Clinical Pathology*, 16(1), 41-46. doi:10.1007/s00580-006-0653-z
- Nielsen, L., Kjølgaard-Hansen, M., Jensen, A. L., y Kristensen, A. T., 2010. Breed-specific variation of hematologic and biochemical analytes in healthy adult Bernese Mountain dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(1), 20-28. doi:10.1111/j.1939-165X.2009.00186.x
- Núñez, O. L., 2005. Análisis clínicos. In F. d. M. V. y. Z. d. I. U. N. A. d. M. C.U. (Ed.), *Métodos y técnicas de diagnóstico Módulo 1 del Diplomado a distancia en medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos* (pp. 97-100). México.
- O'Brien, M. A., McMichael, M. A., Le Boedec, K., y Lees, G., 2014. Reference intervals and age-related changes for venous biochemical, hematological, electrolytic, and blood gas variables using a point of care analyzer in 68 puppies. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*, 24(3), 291-301. doi:10.1111/vec.12162
- Papasouliotis, K., Dodkin, S., Murphy, K., Woloszczuk, G., y Fleming, M., 2006. Analysis of canine and feline blood samples using the Kuadro in-house wet-reagent chemistry analyser. *J Small Anim Pract*, 47(4), 190-195. doi:10.1111/j.1748-5827.2006.00091.x
- Papasouliotis, K., Dodkin, S., Murphy, K. F., y Sladen, A., 2008. Comparison of measurements of 18 analytes in canine and feline blood samples using the in-practice Falcor 350 and the reference KoneLab 30i analysers. *Journal of Small Animal Practice*, 49(10), 494-501. doi:10.1111/j.1748-5827.2008.00587.x
- Pasquini, A., Luchetti, E., y Cardini, G., 2008. Plasma lipoprotein concentrations in the dog: the effects of gender, age, breed and diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(6). doi:10.1111/j.1439-0396.2007.00771.x
- Rautenbach, G. H., y Joubert, H. F., 1988. A comparison of health parameters in two different canine populations. Part II: Chemical pathology data. *J S Afr Vet Assoc*, 59(3), 135-138.
- Reynolds, B., Taillade, B., Medaille, C., Palenche, F., Trumel, C., y Lefebvre, H. P., 2006. Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. *Vet Clin Pathol*, 35(3), 339-340.
- Rishniw, M., Pion, P. D., y Maher, T., 2012. The quality of veterinary in-clinic and reference laboratory biochemical testing. *Vet Clin Pathol*, 41(1), 92-109. doi:10.1111/j.1939-165X.2011.00386.x
- Rortveit, R., Saevik, B. K., Eggertsdottir, A. V., Skancke, E., Lingaas, F., Thoresen, S. I., y Jansen, J. H., 2015. Age-related changes in hematologic and serum biochemical variables in dogs aged 16-60 days. *Vet Clin Pathol*, 44(1), 47-57. doi:10.1111/vcp.12220

- Rosset, E., Rannou, B., Casseleux, G., Chalvet-Monfray, K., y Buff, S., 2012. Age-related changes in biochemical and hematologic variables in Borzoi and Beagle puppies from birth to 8 weeks. *Vet Clin Pathol*, 41(2), 272-282. doi:10.1111/j.1939-165X.2012.00415.x
- Ruau, C. G., Carney, P. C., Suchodolski, J. S., y Steiner, J. M., 2012. Estimates of biological variation in routinely measured biochemical analytes in clinically healthy dogs. *Vet Clin Pathol*, 41(4), 541-547. doi:10.1111/j.1939-165x.2012.00473.x
- Sako, T., Mori, A., Lee, P., Igarashi, A., Oda, H., Saeki, K., . . . Arai, T., 2011. Age-specific plasma biochemistry reference ranges in < 1 year old dogs in Japan. *Veterinary Research Communications*, 35(4), 201-209. doi:10.1007/s11259-011-9463-0
- Schaer, M., 2009. *Clinical Medicine of the Dog and Cat, Second Edition* (M. P. Limited Ed.): CRC Press.
- Schafers, A., Meierhans, S., Sauter-Louis, C., Hartmann, K., y Hirschberger, J., 2013. [Reference values for haematological and clinical-chemical parameters in the dog]. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, 41(3), 163-172.
- Sharkey, L., Gjevre, K., Hegstad-Davies, R., Torres, S., y Munoz-Zanzi, C., 2009. Breed-associated variability in serum biochemical analytes in four large-breed dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(3), 375-380. doi:10.1111/j.1939-165X.2009.00134.x
- Sheerer, K. N., Couto, C. G., Marin, L. M., Zaldivar-Lopez, S., Iazbik, M. C., Dillberger, J. E., . . . Denicola, D. B., 2013. Haematological and biochemical values in North American Scottish deerhounds. *J Small Anim Pract*, 54(7), 354-360. doi:10.1111/jsap.12086
- Solberg, H. E., y Stamm, D., 1991. IFCC recommendation: The theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. *The Journal of Automatic Chemistry*, 13(5), 231-234. doi:10.1155/S146392469100038X
- Stockham, S., y Scott, M., 2008. *Fundamentals of veterinary clinical pathology* (2nd ed.). USA, UK, Australia: Blackwell Publishing.
- Strasser, A., Niedermuller, H., Hofecker, G., y Laber, G., 1993. The effect of aging on laboratory values in dogs. *Zentralbl Veterinarmed A*, 40(9-10), 720-730.
- Swanson, K. S., Kuzmuk, K. N., Schook, L. B., y Fahey, G. C., Jr., 2004. Diet affects nutrient digestibility, hematology, and serum chemistry of senior and weanling dogs. *J Anim Sci*, 82(6), 1713-1724.
- Talke, H., y Schubert, G. E., 1965. [ENZYMATIC UREA DETERMINATION IN THE BLOOD AND SERUM IN THE WARBURG OPTICAL TEST]. *Klin Wochenschr*, 43, 174-175.

- Tasker, J. B., 1978. Studies on the use of Coulter Chemistry in the veterinary laboratory: day-to day reproducibility and the effects of storage, hemolysis, lipemia, hyperbilirubinemia and anticoagulants on test results. *Cornell Vet*, 68(4), 480-505.
- Thomas, J. S., 2004. Introduction to Serum Chemistries: Artifacts in Biochemical Determinations. In M. D. W. Tvedten (Ed.), *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods (Fourth Edition)* (pp. 113-116). Saint Louis: W.B. Saunders.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R., y Campbell, T. W., 2012. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (2 ed.): John Wiley y Sons, Inc.
- Tietz, N. W., Burtis, C. A., Duncan, P., Ervin, K., Petitclerc, C. J., Rinker, A. D., . . . Zygowicz, E. R., 1983. A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clinical Chemistry*, 29(5), 751-761.
- Trangerud, C., Grondalen, J., Indrebo, A., Tverdal, A., Ropstad, E., y Moe, L., 2007. A longitudinal study on growth and growth variables in dogs of four large breeds raised in domestic environments. *J Anim Sci*, 85(1), 76-83. doi:10.2527/jas.2006-354
- Trinder, P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann. Clin. Biochem.*, 6, 24-27.
- Trumel, C., Diquelou, A., Germain, C., Palanche, F., y Braun, J. P., 2005. Comparison of measurements of canine plasma creatinine, glucose, proteins, urea, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase obtained with Spotchem SP 4430 and Vitros 250 analyzers. *Res Vet Sci*, 79(3), 183-189. doi:10.1016/j.rvsc.2004.12.001
- Tschudi, P. R., 1995. [Evaluation of the dry chemical analysis system VetTest 8008]. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 137(8), 381-385.
- Uchiyama, T., Tokoi, K., y Deki, T., 1985. [Successive changes in the blood composition of experimental normal beagle dogs associated with age]. *Jikken Dobutsu*, 34(4), 367-377.
- Uhrikova, I., Lacnakova, A., Tandlerova, K., Kucharova, V., Rehakova, K., Janova, E., y Doubek, J., 2013. Haematological and biochemical variations among eight sighthound breeds. *Aust Vet J*, 91(11), 452-459. doi:10.1111/avj.12117
- Vap, L. M., Harr, K. E., Arnold, J. E., Freeman, K. P., Getzy, K., Lester, S., y Friedrichs, K. R., 2012. ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol*, 41(1), 8-17. doi:10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x
- von Dehn, B., 2014. Pediatric clinical pathology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 44(2), 205-219. doi:10.1016/j.cvsm.2013.10.003

- von Dehn, B., 2014. Pediatric Clinical Pathology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 44(2), 205-219. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.10.003>
- Walters, M. I., y Gerarde, H. W., 1970. An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchem J*, 15, 231-243.
- Walton, R. M., 2012. Subject-based reference values: biological variation, individuality, and reference change values. *Vet Clin Pathol*, 41(2), 175-181. doi:10.1111/j.1939-165X.2012.00414.x
- Washbau, R. J., y Day, M. J., 2013. *Canine an feline gastroenterology*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Washington, I. M., y Van Hoosier, G., 2012. Chapter 3 - Clinical Biochemistry and Hematology. In M. A. Suckow, K. A. Stevens, y R. P. Wilson (Eds.), *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (pp. 57-116). Boston: Academic Press.
- Westgard, J. O., 1992. Assuring analytical quality through process planning and quality control. *Arch Pathol Lab Med*, 116(7), 765-769.
- Whittemore, J. C., y Flatland, B., 2010. Comparison of biochemical variables in plasma samples obtained from healthy dogs and cats by use of standard and microsample blood collection tubes. *J Am Vet Med Assoc*, 237(3), 288-292. doi:10.2460/javma.237.3.288
- Willard, M. D., y Tvedten, H., 2012. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods* (5th ed.). St. Louis, Mo.: Elsevier.
- Wittwer, F., 2008. *Consideraciones sobre valores de referencia e interpretación de resultados en bioquímica clínica*. Paper presented at the V Congreso FIA VAC y VII Congreso VEPA, Colombia.
- Wright-Rodgers, A. S., Waldron, M. K., Bigley, K. E., Lees, G. E., y Bauer, J. E., 2005. Dietary Fatty Acids Alter Plasma Lipids and Lipoprotein Distributions in Dogs during Gestation, Lactation, and the Perinatal Period. *The Journal of Nutrition*, 135(9), 2230-2235.
- Zaldivar-Lopez, S., Marin, L. M., Iazbik, M. C., Westendorf-Stingle, N., Hensley, S., y Couto, C. G., 2011. Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Vet Clin Pathol*, 40(4), 414-425. doi:10.1111/j.1939-165X.2011.00360.x

## ANEXOS

- Anexo A. Guía para el estilo del documento de protocolo de tesis
- Anexo B. Metodología y proceso de la muestra
- Anexo C. Niveles de control de calidad en la bioquímica sanguínea.
- Anexo D. Técnica para cuantificación de la actividad enzimática de alanino aminotransferasa
- Anexo E. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática aspartato aminotransferasa
- Anexo F. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de lactato deshidrogenasa
- Anexo G. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de fosfatasa alcalina
- Anexo H. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de  $\gamma$ -glutamil transferasa
- Anexo I. Técnica para la cuantificación de urea
- Anexo J. Técnica para la cuantificación de creatinina
- Anexo K. Técnica para la cuantificación de colesterol
- Anexo L. Técnica para la cuantificación de triglicéridos
- Anexo M. Técnica para la cuantificación de glucosa
- Anexo N. Técnica para la cuantificación de proteínas totales
- Anexo O. Técnica para la cuantificación de albúmina
- Anexo P. Técnica para la cuantificación de bilirrubina total
- Anexo Q. Técnica para la cuantificación de bilirrubina directa
- Anexo R. Hoja clínica
- Anexo S. Hoja de resultados para los propietarios

## **Anexo A. Guía para el estilo del documento de protocolo de tesis**

### **1. CARACTERÍSTICAS GENERALES**

#### **1.1. Formato**

El documento será escrito con interlineado de espacio y medio, excepto los pies de figura y encabezados de cuadros que llevarán interlineado sencillo. Los márgenes izquierdo, derecho, superior e inferior medirán, al menos, 3 cm, 2.5, 2.5 y 2.5 cm, respectivamente. Se destinará un centímetro a la izquierda para encuadernación.

#### **1.2. Archivo electrónico**

El documento de protocolo no deberá imprimirse, encuadernarse o empastarse, excepto para mantener su cardex completo. Se recomienda realizar la impresión del documento de tesis por ambos lados del papel. Cuando se concluyan los estudios y se tenga la versión final aprobada se recomienda entregar un ejemplar protegido con pastas duras de color oscuro con letras claras. No serán aceptados documentos engargolados, con broches u otro tipo formatos poco perdurables. Simultáneamente a la entrega del documento impreso, se entregará la misma versión en archivo electrónico, libre de virus y en formato \*.doc, \*.rtf o \*.pdf.

#### **1.3. Tamaño y tipo del papel**

Se deberá usar papel bond de buena calidad, tamaño carta (21.59 x 27.94 cm).

#### **1.4. Tipo de letra**

Se deberá usar el tipo de letra de molde con uniformidad y claridad para todas las copias, tanto para textos como para ilustraciones (Tamaño 11 puntos; Tipo Arial, Tahoma o Times New Roman). En el caso de términos o palabras en latín y griego, utilizar itálicas o cursivas. Para transcripciones y palabras fuera de lo común, se emplearán comillas y se aclarará su significado en una nota a pie de página.

#### **1.5. Estilo**

El protocolo se redactará en forma impersonal (tercera persona) utilizando el tiempo futuro para los capítulos de Metodología, así como en el de Resultados; el resto del documento se redactará en tiempo presente.

En los avances y documento final se redactará utilizando el tiempo pasado para los capítulos de Metodología, así como en el de Resultados; el resto del documento se redactará en tiempo presente.

El sistema métrico utilizado será el decimal, y las abreviaturas de sus unidades se apegarán al Sistema Internacional de Unidades (SIU), por lo que no llevarán punto, a menos que estén al final de una oración (cm, m, kg, ml, etc.). Dichas abreviaturas son iguales para el singular y el plural, por ejemplo, 1.0 kg y 4.0 kg. Se procurará que no se confundan los números uno y cero con las letras “e” y “o”, respectivamente, agregando un punto decimal y un dígito decimal. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura no incluida en el SIU deberá escribirse su nombre completo y a continuación se anotarán las siglas respectivas entre paréntesis.

La ortografía y la sintaxis deberán estar de acuerdo a las reglas gramaticales generalmente aceptadas, así como evitar tecnicismos, anglicismos, galicismos y neologismos.

#### **1.6. Cuadros y Figuras**

Los cuadros y las figuras deberán ser explicativos por sí mismos, de tal forma que no haya necesidad de recurrir al texto para su comprensión. Los cuadros deberán llevar encabezados y las figuras pie de figura y tendrán un formato uniforme a lo largo del documento. Ambos estarán identificados por números consecutivos y en series separadas. Se colocarán inmediatamente después al texto donde se hace referencia a ellos por primera vez.

Los cuadros y figuras sólo deberán contener datos relevantes, evitando aquellos que sean pobres de información y repetitivos a los datos señalados en el texto u otras partes del documento. En caso de usar fotografías estas deberán ser nítidas y bien contrastadas.

#### **1.7. Notas al pie de página**

Las notas deberán ser únicamente aclaratorias y que se refieran a comunicaciones personales y transcripciones; deberán tener una llamada (por números o símbolos) y escribirse a un espacio de manera breve.

#### **1.8. Características de los apartados**

**CAPÍTULOS DE PRIMER NIVEL:** Cada capítulo comenzará en una nueva página. En negritas, 14 puntos, mayúsculas, centradas, con un espacio previo y otro posterior. Se

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

numerará con dígitos enteros. Sin punto final (por ejemplo, **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**).

CAPÍTULOS DE SEGUNDO NIVEL: Negritas. Mayúsculas, 12 puntos, al margen izquierdo, un espacio previo y un punto final aparte. Se numerará con un número decimal relativo al capítulo correspondiente. Sin punto final (por ejemplo, **2.5. JUSTIFICACIÓN**).

CAPÍTULOS DE TERCER NIVEL: Negritas. Tipo oración con la primer letra mayúscula, 12 puntos, al margen izquierdo, sin un espacio previo y un salto de línea final aparte. Se numerará con un número decimal relativo al capítulo de segundo nivel correspondiente. Sin punto final (por ejemplo, **2.4.2. Objetivos específicos**).

CAPÍTULOS DE CUARTO NIVEL: Negritas, tipo oración con la primer letra mayúscula, 12 puntos, al margen izquierdo, sin un espacio previo y un punto seguido. Se numerará con un número decimal relativo al capítulo de tercer nivel correspondiente; por ejemplo (**5.2.1.1. Modificación de un producto; 5.2.1.2. Modificación de un proceso**).

Los capítulos de cuarto nivel no se deberán dividir en nuevos apartados. En el caso de que se requiera dividir la información será necesario reagrupar los apartados de nivel superior para no exceder el número de niveles.

## **1.9. Numeración**

El cuerpo principal de la tesis se numerará progresivamente con números arábigos en la derecha de la parte inferior de cada página.

## **2. PORTADAS Y ANEXOS**

### **2.1. Portada**

Incluirá: Nombre y logotipo de la Universidad, el nombre del posgrado (Posgrado en Ciencias Agronómicas y Veterinarias), título del tema estudiado, grado por el que se opta (Maestro en Ciencias Agronómicas o Maestro en Ciencias Veterinarias), nombre del sustentante (con los grados académicos anteriores), nombres completos (con el grado académico superior) del tutor y Comité tutorial, así como lugar y fecha de presentación del protocolo, avance o examen de grado.

## **2.2. Portadilla**

Nombre y logotipo de la Universidad, título del tema estudiado, nombre del sustentante (con los grados académicos anteriores), grado por el que se opta.

Además se inscribirá la siguiente leyenda “*El presente documento fue revisado, presentado, defendido y aprobado en el seminario/examen de grado correspondiente*”, seguido de un listado de nombres completos (con el grado académico superior) del Tutor e integrantes del Comité Tutoral y espacio para firma de las personas participantes en el jurado de examen de grado, así como lugar y fecha.

## **2.3. Reconocimientos**

Serán reconocimientos académicos o institucionales expresados para enunciar en qué medida el autor del documento recibió ayuda financiera, apoyo técnico o asesoría académica de otras personas. No se extenderá más de una cuartilla.

## **2.4. Índice general**

Enlista cada uno de los capítulos y contenidos hasta el tercer nivel (Ver apartado de Capítulos de este documento), en la secuencia de la paginación correspondiente.

## **2.5. Índice de cuadros**

Si el texto contiene cuadros, deberán enlistarse en este apartado en forma consecutiva.

## **2.6. Índice de figuras**

Misma consideración que para los cuadros.

## **2.7. ACRÓNIMOS (Abreviaturas y siglas usadas)**

En el caso de que se usen más de 10 abreviaturas y siglas en el texto, deberá hacerse una lista de ellas en hoja específica.

## **2.8. Resumen**

Deberá ser de tipo informativo a renglón seguido, en un solo párrafo y su extensión no deberá exceder de una cuartilla. Los elementos que debe incluir son: la información sobresaliente de introducción, objetivos, metodología, resultados (esperados) y (posibles)

conclusiones, sin capitularlos. No deberán usarse citas ni llamadas al pie, ni contendrá cuadros o figuras. Deberá incluir en la parte inferior entre 4 y 6 palabras claves.

### **2.9. Abstract**

Será la traducción al idioma inglés del cuerpo del resumen. Se traducirán e incluirán al final las mismas palabras claves en inglés o “key words”.

### **2.10. Apéndices o Anexos**

Es toda aquella información accesoria y que se utiliza únicamente para ampliar o aclarar el trabajo principal. Usualmente contiene las metodologías empleadas para obtener o analizar los datos, una copia de las publicaciones derivadas del estudio, tanto las que estén enviadas, aceptadas o que ya hayan aparecido en una revista apropiada. Cada sección debe ser identificada consecutivamente, por ejemplo, “*Apéndice A. Análisis de varianza*”.

## **3. CUERPO O TEXTO PRINCIPAL**

### **3.1. Introducción**

Su finalidad es presentar en forma clara y explícita los antecedentes, la justificación del estudio y el planteamiento del problema, con un fundamento bibliográfico muy breve pero suficiente para sustentar el problema agropecuario, productivo o económico planteado en el estudio.

### **3.2. Antecedentes**

Deberá indicarse la información más reciente, relevante y disponible sobre el tema de estudio. Se revisarán preferentemente las fuentes de información original de mayor relevancia. En el caso de ser necesario, la consulta y uso de información contenida en páginas electrónicas, se recomienda que éstas pertenezcan a instituciones de reconocido prestigio. Su uso se limitará para hacer referencia a características o datos específicos que resulten de importancia para la investigación del estudiante. La citación de documentos que procedan de congresos o reuniones especializadas, páginas WEB, tesis no publicadas y referencias personales será limitada como máximo al 5% del total de las referencias. La extensión de esta sección se basará principalmente en la disponibilidad de información específica del tema bajo estudio, quedará a juicio del Comité Tutorial a propuesta del estudiante definida a partir de una consulta exhaustiva de bases de datos científicas

(<http://apps.webofknowledge.com.dibpxy.uaa.mx/>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>, <http://www.scopus.com.dibpxy.uaa.mx/>, etc.) y con el visto bueno del tutor. Esta sección deberá contener una revisión histórica completa del tema, incluyendo las referencias más relevantes y con mayor número de citadas publicadas en los últimos 5 años.

Las referencias se integrarán al texto por la mención de los autores-año. Al respecto, los apellidos del o de los autores deberán citarse tal y como aparece en la fuente original de información. En el texto se citará el apellido del autor seguido del año de publicación y se pondrán entre paréntesis, por ejemplo: “...*la prueba de ELISA ha sido utilizada para el diagnóstico de la brucelosis (Gutiérrez, 1993)*”. Cuando el nombre del autor es parte de la oración, sólo el año se presentará entre paréntesis, por ejemplo: “*Gutiérrez (1993) menciona que...*” Cuando la referencia sólo tenga dos autores, los apellidos de ambos se escribirán separados por una “y”, por ejemplo: “*Gutiérrez y Rodríguez (1993) mencionan que...*”

Si se tienen varias referencias que apoyan la misma idea, se separarán por un punto y coma, enunciándose en forma cronológica. Por ejemplo: “... *la prueba de ELISA ha sido utilizada para el diagnóstico de la brucelosis (Gutiérrez, 1991; Williams y Puerto, 1993)*”. En el caso de que haya más de dos autores para una referencia se escribirá sólo el apellido del primer autor seguido por la abreviatura “y col.”, por ejemplo, Smith y col., (1993) o por las siglas “et al.” (et al = y otros, y *colaboradores*).

Sólo se citarán las fuentes originales de información. No se deberá incluir referencias citadas por otros autores a menos que sea imprescindible, en cuyo caso, se incluirán dentro de otro tipo de referencias señaladas anteriormente, que en conjunto se limitarán como máximo al 5% del total de la literatura citada. La forma de incluirlas en el texto será la siguiente: Ramírez, citado por Herrera (1987) describió.....

No deberán usarse citas textuales a menos que sean muy necesarias (máximo 2 ó 3), en cuyo caso se insertarán entrecomilladas en el texto; si la cita fuera mayor a 3 renglones se presentara después de un punto y aparte, con sangrías izquierda y derecha, así como en letras itálicas de menor tamaño (un punto menos que el texto normal) y con interlineado sencillo.

El uso de comunicaciones personales se limitará en lo posible y se hará a través de una nota a pie de página.

### **3.3. Problema bajo estudio, objetivo general y objetivos específicos.**

Estos 3 apartados deberán ser congruentes entre sí, así como con el título y conclusiones de la investigación. Cada apartado deberá presentarse en páginas independientes.

### **3.4. Metodología**

Deberá incluir una descripción detallada del lugar (Coordenadas geográficas), las poblaciones de estudio, el tiempo y en general todas las condiciones en que el trabajo fue realizado. A la primera mención de las especies inusuales, se escribirán los nombres científicos en letra cursiva, seguidos de su identificador y entre paréntesis los nombres de las jerarquías taxonómicas superiores. Posteriormente en el cuerpo del texto se abreviarán el género de cada especie; por ejemplo: *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith; Lepidoptera: Noctuidae), que se abrevia como: *S. frugiperda*.

Este apartado debe ser descrito cuidadosamente, de manera que un futuro lector pueda repetir todos los trabajos, ensayos o estudios. Cuando se utilicen técnicas o metodologías ya descritas en la literatura, se deberá de citar la referencia bibliográfica. En el caso de que hayan hecho modificaciones a las técnicas publicadas, éstas serán descritas con todo detalle. Si el trabajo comprende más de una etapa, se deberá dividir secuencial y cronológicamente. Esta división se hará también en los apartados de Resultados y Discusión. Deberá incluir una descripción precisa de los métodos estadísticos que fueron utilizados.

Se sugiere un esquema como el siguiente: localización, ubicación del laboratorio, corrales, parcelas, ranchos o comunidades donde se realizó el trabajo, condiciones en las que se desarrolló (sí es de campo, climatológicas y de suelo; si es de corrales, materiales, medidas; si es con animales, razas, dietas usadas, etc.; si es en laboratorios, clima controlado, etc.); manejo de muestras o de unidades experimentales, variables medidas o calculadas, diseños experimentales, análisis estadísticos, otros análisis (económicos, etc.).

### **3.5. Resultados (esperados) y Discusión**

Es posible que se separen los resultados de la discusión, tomando en consideración la propuesta del estudiante y el visto bueno de los asesores. La sección de resultados constituye la parte medular del escrito, ya que informa de los hallazgos del estudio. Si se presentan sólo los resultados, no se expresarán interpretaciones o valoraciones de los mismos, dejando esos elementos para el capítulo de discusión.

La mayor parte de los datos deberán ser presentados en orden lógico y en forma de cuadros y figuras. Los cuadros y figuras se presentarán en la sección y página que se mencionan. Los datos presentados en los cuadros deberán ser claros. Cada cuadro o figura deberán tener un número de referencia y un título. Los números serán consecutivos de acuerdo al orden de su presentación.

Es importante describir la información presentada en los cuadros o figuras precisamente en el párrafo inmediato anterior a cada cuadro o figura, haciendo una llamada de atención (“*en el cuadro 12 se presenta...*”) de tal manera que se resalten sus características, pero sin repetir la información presentada. En párrafos posteriores se podrá abundar en la descripción, en caso de que sea necesario.

En la Discusión el autor tiene que comentar sus resultados y compararlos críticamente con aquellos de otros autores, así como deducir conclusiones válidas de dicha comparación. Deberá evitarse la repetición de párrafos o ideas de otros apartados del documento de tesis, por ejemplo aquellos que ya se encuentran en los antecedentes. Este capítulo debe ser la parte del estudio que ofrezca explicaciones a los eventos evaluados. Opcionalmente y al final de la discusión, se podrán mencionar aspectos sobre consecuencias del estudio y/o posibles recomendaciones.

### **3.6. Conclusiones**

Las conclusiones se extraerán en su totalidad del conocimiento generado por el estudio, particularmente de los resultados y deberán ser presentadas en forma explícita, clara y concisa. Deberán ser congruentes con los objetivos, a menos que hayan surgido nuevas ideas que no se plantearon originalmente en ellos.

### **3.7. Referencias bibliográficas**

Las referencias se presentan de manera que el lector pueda referirse al documento original para estudios posteriores. El acomodo de las citas será por orden alfabético del apellido del primer autor.

La cita bibliográfica contendrá el apellido e iniciales de los autores, año de publicación, título de la obra, nombre de la revista, editorial o nombre del evento, volumen, número y páginas; indicando con letras itálicas la fuente física del origen de la referencia (Revista, libro, tesis, etc.).

En caso de que un autor o grupo de autores se cite más de una vez con diferentes obras, se establecerá un orden cronológico. Si existen varias obras del mismo autor y del mismo año, serán diferenciadas tanto en el texto como en la literatura citada con una letra minúscula del alfabeto al final del año de la publicación. Por ejemplo: (Pérez, 1999b).

A continuación se presentan algunos ejemplos de citación de artículos, libros, tesis, páginas electrónicas y presentaciones de congresos con el formato que se sugiere utilizar:

Artículos de revista:

Henderson, C. R. 1989. Theoretical basis in computational methods for a number of different animal model. *Animal Model Workshop. J. Dairy Sci.* 71 (Suppl. 2):1-16.

Vollema, A.R., and Groen, A.F., 1996. Genetic parameters of longevity traits of an upgrading population of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 79(4): 2261-2267.

Funk, D. C., Hansen, L. B. and Funk, D. A., 1991. Inheritance of cow durability for linear type traits. *J. Dairy Sci.* 74(7): 1753-1759.

Libros:

Henderson, C. R., 1984. *Application for linear models in animal breeding*. Ed. University of Guelph: Canadá, p. 423.

Capítulos en libros:

Steell, G. E. 1984. Linear and no linear models. *In: Henderson, C. R., Application for linear models in animal breeding*. Ed. University of Guelph: Canada, pp. 110-145.

Tesis:

Vollema, A. R., 1998. *Selection for longevity in dairy cattle*. Doctoral thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands.

Página electrónica:

Van der Werf, J. H. J. 2000. MTBLUP [online]. *Excel program for Selection Index*. Obtenido: 01-10-2004: <http://www-personal.une.edu.au/~jvanderw/software.htm>

Presentaciones de Congresos:

Strandberg, E. and Solkner, J., 1996. Breeding for longevity and survival in dairy cattle. *Proc. International Workshop on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle*. Faculte Universitaire des Sciences Agronomiques, Cembleux, Belgium, January 21-23; p 111-119.

## Anexo B. Metodología y proceso de la muestra

Para desarrollar la evaluación bioquímica se tomó una muestra de 5 ml de sangre en perros adultos y de 2 ml de sangre en cachorros, obtenida de vena yugular depositada en tubos al vacío sin anticoagulante y con revestimiento de silicona para evitar la adsorción de algunos analitos en el vidrio del tubo. Una vez se obtuvo la muestra se dejó reposar el tubo en posición horizontal o vertical hasta que se observó la coagulación, esto ocurrió de 30 a 40 minutos después de tomar la muestra. No se debe centrifugar ni colocar en refrigeración antes de que coagule, porque provocaría hemólisis.

Después la muestra fue centrifugada a 2500 rpm durante 5 o 10 minutos una vez que se formó el coagulo, el suero obtenido fue transferido a un vial para refrigerar a 4°C y hasta su análisis después de su extracción; si no era posible analizar la muestra en seguida, se congelo el suero a -20°C.

Si no fuera posible centrifugar la muestra, se podrá refrigerar a 4°C después de que el coagulo se haya retraído y se observe un poco de suero (Núñez, 2005).

### **Anexo C. Niveles de control de calidad en la bioquímica sanguínea.**

Para el control de calidad se evaluaron los 3 niveles de calidad:

#### **1) Nivel 1.**

- a) Muestras: Para evitar errores ligados a la muestra de sangre, se eliminaron del estudio todas aquellas que mostraron hemólisis, lipemia o ictericia, ya que estas alteraciones pueden modificar la concentración de algunos analitos.
- b) Material: En este caso, se procede a un cuidado minucioso al realizar la limpieza de todos los materiales debido a que materiales mal enjuagados, con restos de detergente o agua pueden provocar errores en el análisis.
- c) Reactivos: Con los reactivos se tiene especial cuidado para evitar su contaminación, para ello, se debe asegurar que las pipetas utilizadas durante el proceso estén libres de contaminantes, también se evitar reintroducir al frasco reactivo que no fue utilizado; además éstos deben permanecer en un adecuado almacenamiento según las indicaciones del proveedor, en la mayoría es entre 4 y 8 °C o algunos a temperatura ambiente y protegidos de la luz en frascos ámbar. Otro aspecto importante es identificar la fecha de preparación de los reactivos que lo requieren y la fecha límite para su uso. También se deben de evitar reactivos caducados. Algunos reactivos se oxidan con mayor facilidad por esta razón es conveniente cerrarlos después de utilizarlos y guárdalos según su almacenaje.
- d) Equipos: Todos los equipos usados para la bioquímica sanguínea como espectrofotómetros, centrifugas, micropipetas entre otros tienen un mantenimiento periódico, según las indicaciones del proveedor para evitar que su deterioro afecte los resultados.
- e) Operador: Para evitar errores involuntarios durante la manipulación del material y la ejecución de técnicas operativas, es importante adquirir la experiencia necesaria, por esta razón se cuenta con cursos y estancias, para desarrollar un mayor número de habilidades y aprender las practicas correctas.

#### **2) Nivel 2.**

- a) Blanco reactivo: Su función es controlar la calidad de los reactivos de trabajo y detectar contaminación o alteración de los mismos.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- b) Soluciones estándares/ curvas de calibración: Son utilizadas como testigo o referencia para determinar la concentración del metabolito en estudio. A partir de estas soluciones, se construyen curvas de calibración para cada analito en base a la Ley de Lamber-Beer que establece que la absorbancia es directamente proporcional a su concentración.
  - c) Duplicación de la muestra: Se trabaja con repeticiones para poder controlar la precisión y acercarse al valor real. Se considera aceptable una diferencia del 10%. También se recomienda trabajar con coeficientes de variación menores al 5%.
  - d) Sueros controles: permiten verificar la exactitud y precisión de un resultado; además de detectar errores sistemáticos y aleatorios. Se ha demostrado que el origen de los sueros no interfiere en la calidad de los controles para distintas especies.
  - e) Sueros residuales: a partir de estos sueros se realiza un “pool” y se miden algunos parámetros varias veces, después se determina un promedio con una desviación estándar en base a el grado de precisión con el que se desea trabajar y el resultado obtenido es empleado como control. Después este se fracciona y congela para ser utilizado de manera periódica como autocontrol.

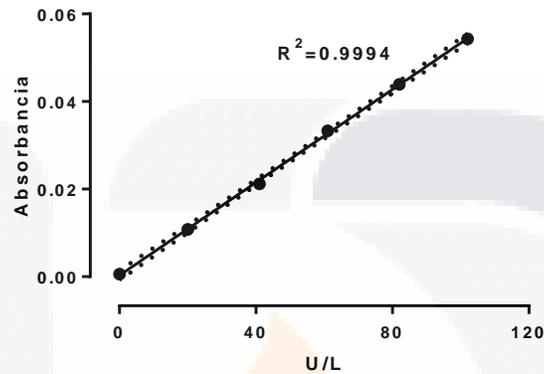
**3) Nivel 3.**

- a) Controles interlaboratorios: Estos se realizan generalmente en fechas establecidas y conocidos como controles puntuales. Por consecuencia, se enviaron algunas muestras a un laboratorio clínico externo con el fin de valorar la precisión y exactitud de las determinaciones (Cseh, 2003).

## Anexo D. Técnica para cuantificación de la actividad enzimática de alanina aminotransferasa

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.

Curva de calibración de alanina aminotransferasa



### Sueros control:

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

Control	Rango
I	30 – 44 U/L
II	172 – 248 U/L

### Procedimiento de la técnica:

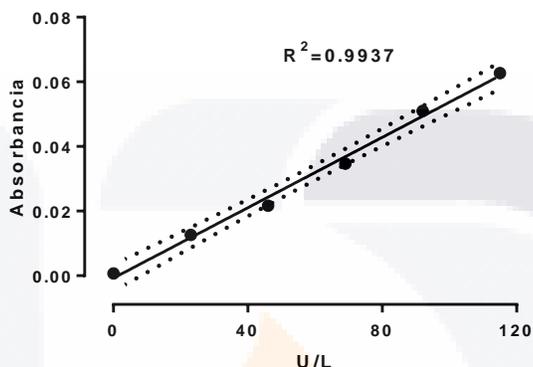
1. Preparación del reactivo GPT (ALT) de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 $\mu$ L de reactivo más 100  $\mu$ L de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 minutos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en U/L.

Equipo: Espectrofotómetro BTS- 350

## Anexo E. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática aspartato aminotransferasa

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.

Curva de calibración de aspartato aminotransferasa



### Sueros control:

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

Control	Rango
I	35 – 50 U/L
II	157 – 225 U/L

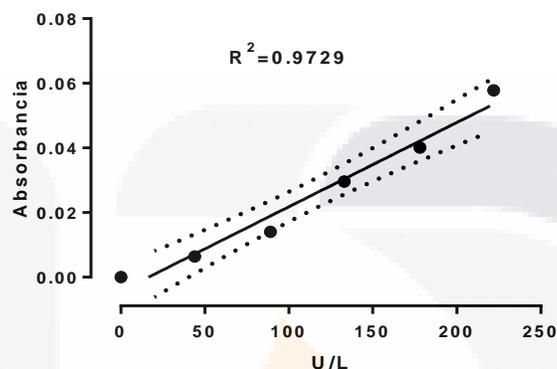
### Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo GPT (AST) de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000  $\mu$ L de reactivo más 100  $\mu$ L de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 minutos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en U/L.

## Anexo F. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de lactato deshidrogenasa

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.

Curva de calibración de lactato deshidrogenasa



### Sueros control:

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

Control	Rango
I	159 – 229 U/L
II	320 – 460 U/L

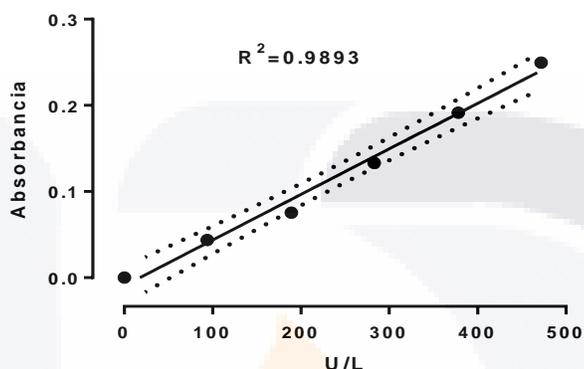
### Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo LDH de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000  $\mu$ L de reactivo más 50  $\mu$ L de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 30 segundos.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (1 minuto 30 segundos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en U/L.

## Anexo G. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de fosfatasa alcalina

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.

Curva de calibración de fosfatasa alcalina



### Sueros control:

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

Control	Rango
I	97 – 139 U/L
II	263 – 369 U/L

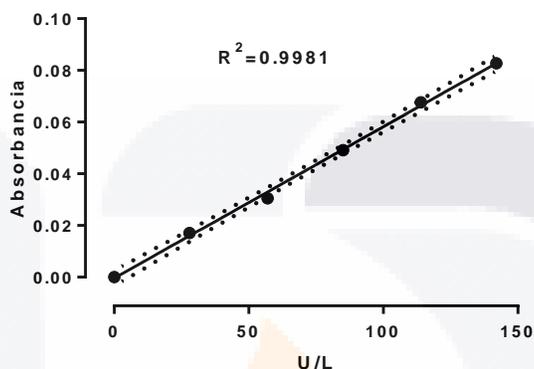
### Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo FAS de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000  $\mu$ L de reactivo más 25  $\mu$ L de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 minutos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en U/L.

## Anexo H. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de $\gamma$ -glutamil transferasa

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.

Curva de calibración de gamma glutamil transferasa



### Sueros control:

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

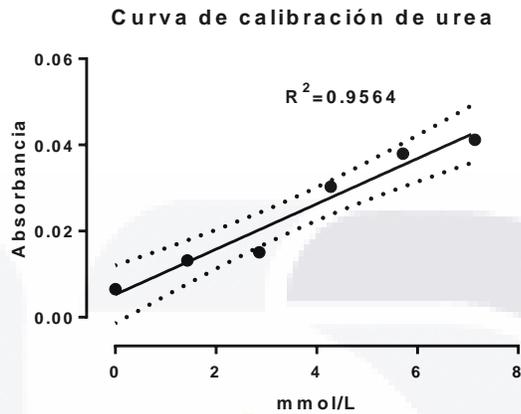
Control	Rango
I	29 – 42 U/L
II	179 – 257 U/L

### Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo GGT de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000  $\mu$ L de reactivo más 100  $\mu$ L de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 minutos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en U/L.

**Anexo I. Técnica para la cuantificación de urea**

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

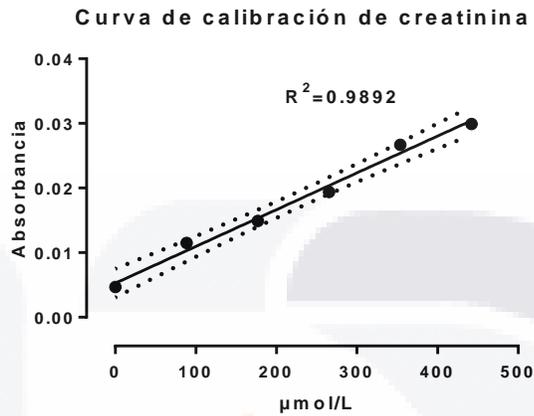
Control	Rango
I	12 – 16 mg/dL
II	42 – 57 mg/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. Preparación del reactivo de urea de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 µL de reactivo más 10 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 30 segundos.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (1 minuto 30 segundos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

**Anexo J. Técnica para la cuantificación de creatinina**

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

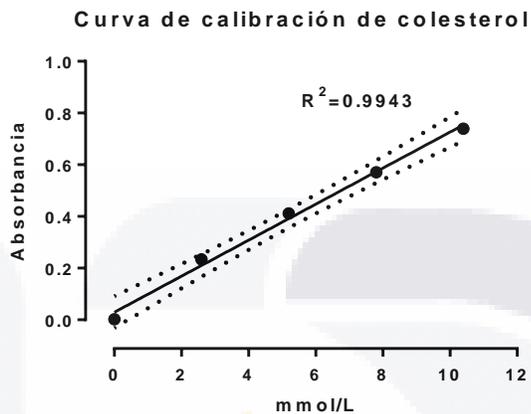
Control	Rango
I	1.3 – 1.9 mg/dL
II	3.9 – 5.5 mg/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. Preparación del reactivo Creatinina Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 µL de reactivo más 50 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 minutos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

### Anexo K. Técnica para la cuantificación de colesterol

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

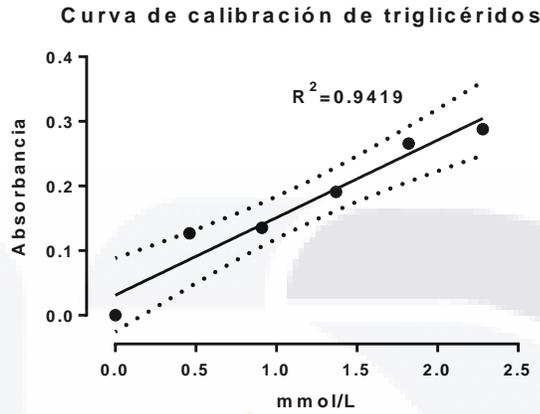
Control	Rango
I	134 – 182 mg/dL
II	218 – 296 mg/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. El reactivo de Colesterol Pointe Scientific, Inc. esta listo para usarse.
2. Pipetear 500µL de reactivo más 5 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 5 minutos.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

**Anexo L. Técnica para la cuantificación de triglicéridos**

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

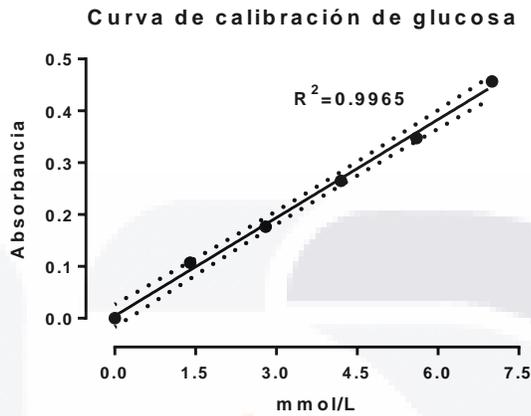
Control	Rango
I	39 – 56 mg/dL
II	172 – 232 mg/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. El reactivo de Colesterol Pointe Scientific, Inc. esta listo para usarse.
2. Pipetear 500µL de reactivo más 5 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 5 minutos.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

### Anexo M. Técnica para la cuantificación de glucosa

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

Control	Rango
I	75 – 101 mg/dL
II	235 – 317 mg/dL

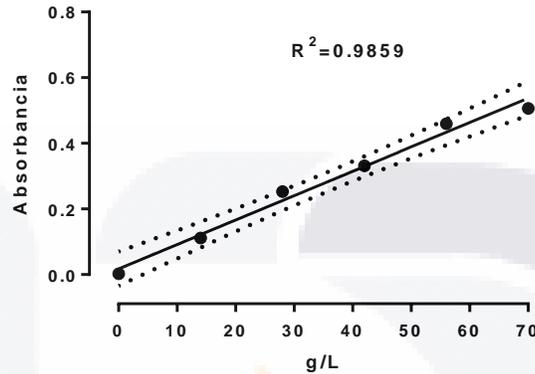
**Procedimiento de la técnica:**

1. El reactivo de Glucosa Pointe Scientific, Inc. esta listo para usarse.
2. Pipetear 500µL de reactivo más 5 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 10 minutos.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

### Anexo N. Técnica para la cuantificación de proteínas totales

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.

Curva de calibración de proteínas totales



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

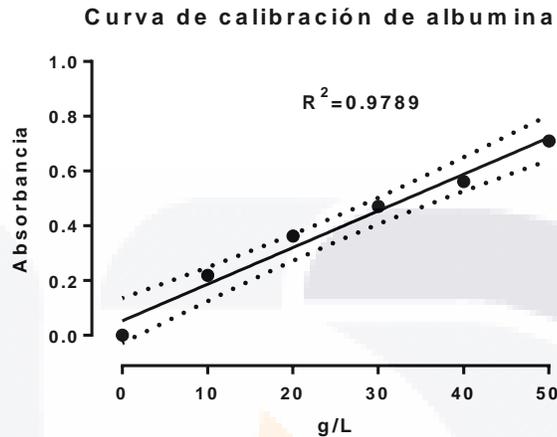
Control	Rango
I	4.4 – 5.6 g/dL
II	6.7 – 8.5 g/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. El reactivo de Proteínas totales Pointe Scientific, Inc. esta listo para usarse.
2. Pipetear 500µL de reactivo más 10 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 5 minutos.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en g/dL y se realiza la conversión a la UI.

**Anexo O. Técnica para la cuantificación de albúmina**

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

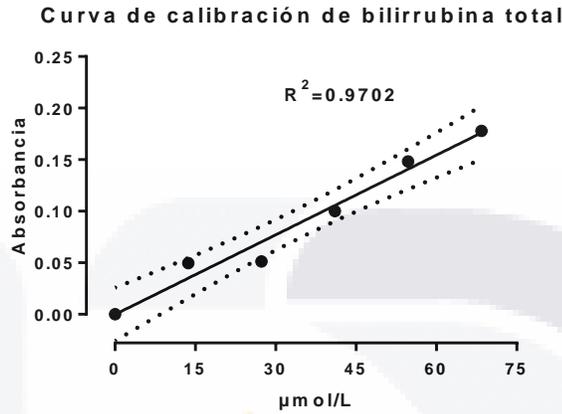
Control	Rango
I	2.2 – 3.1 g/dL
II	3.3 – 4.7 g/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. El reactivo de albúmina Pointe Scientific, Inc. esta listo para usarse.
2. Pipetear 500µL de reactivo más 5 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en g/dL y se realiza la conversión a la UI.

**Anexo P. Técnica para la cuantificación de bilirrubina total**

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

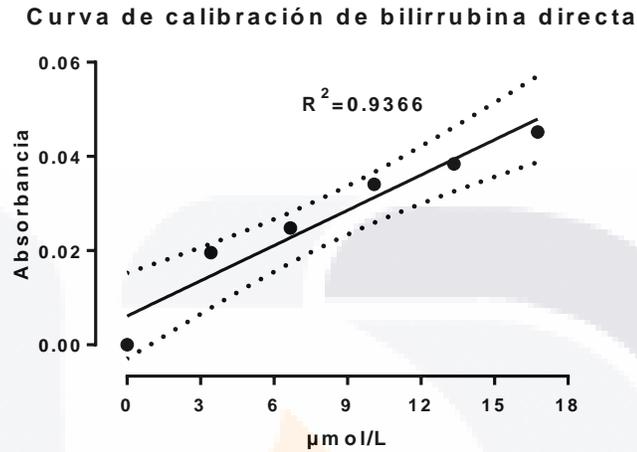
Control	Rango
I	1.8 – 2.7 mg/dL
II	5 – 7.2 mg/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. Preparación del reactivo Bilirrubina total de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 500μL de reactivo más 25 μL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

**Anexo Q. Técnica para la cuantificación de bilirrubina directa**

**Calibración:** Se elaboró una curva de calibración para verificar el comportamiento del analito.



**Sueros control:**

Antes de cada corrida se realiza la lectura del control I (bajo) y el control II (alto), estos controles deben dar como resultado un valor dentro del rango establecido por el kit y número de lote.

Control	Rango
I	0.46 – 0.85 mg/dL
II	1.1 – 2.1 mg/dL

**Procedimiento de la técnica:**

1. Preparación del reactivo Bilirrubina directa de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 500µL de reactivo más 50 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado.
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

Anexo R. Hoja clínica



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

<b>MVZ:</b>		<b>Fecha:</b>	
<b>Datos del Propietario</b>			
Nombre del Propietario:			
Dirección:			
Teléfono:		Celular:	
Correo:			
<b>Datos del paciente</b>			
Expediente:		Nombre:	
Edad:		Sexo:	Hembra      Macho
Reproductor	Castrado	Raza:	Peso:
Alimento:	Croquetas	Otros:	Condición corporal: 1    2    3    4    5
		Ayuno:	No    <2 h    2 h    4 h    >4 h
Breve reseña:			
T°:	Pulso:	FC:	FR:
Mucosas:		Llenado capilar:	
<b>BIOQUÍMICA SANGUÍNEA</b>			
	<b>RESULTADO</b>	<b>UNIDAD INTERNACIONAL</b>	
AST		U/L	
ALT		U/L	
GGT		U/L	
LDH		U/L	
ALP		U/L	
COLESTEROL		mmol/L	
TRIGLICÉRIDOS		mmol/L	
PROTEÍNAS TOTALES		g/dL	
ALBÚMINA		g/dL	
GLUCOSA		mmol/L	
UREA		mmol/L	
BUN		mg/dL	
CREATININA		µmmol/L	
BILIRRUBINA TOTAL		µmmol/L	
BILIRRUBINA DIRECTA		µmmol/L	
MUESTRA:			
OBSERVACIONES:			

**Anexo S. Hoja de resultados para los propietarios**



<b>MVZ:</b>		Fecha:
<b>Datos del Propietario</b>		
Nombre del Propietario:		
Dirección:		
Teléfono:		Celular:
Correo:		
<b>Datos del paciente</b>		
Nombre:		Edad:
Género:		Peso:

**BIOQUÍMICA SANGUÍNEA**

ANALITO	UNIDADES	VALORES	
		PACIENTE	REFERENCIA
AST	U/L		<55
ALT	U/L		<70
GGT	U/L		<6
LDH	U/L		<250
FAS	U/L		<189
Colesterol	mmol/L		2.85 - 7.76
Triglicéridos	mmol/L		.6 – 1.2
Proteínas totales	g/L		56 – 75
Albúmina	g/L		29 – 40
Glucosa	mmol/L		3.4 – 6.9
BUN	mg/dL		5.85 – 22.14
Urea	mmol/L		2.09 – 7.91
Creatinina	µmmol/L		<126
Bilirrubina total	µmmol/L		<5.2
Bilirrubina conjugada	µmmol/L		<5

**Breve interpretación:**

Si le interesa seguir participando estamos a sus órdenes en el teléfono: 449-183-10-25 (Ana Luisa Montoya)