



CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

Tesis

**EFFECTO FISIOLÓGICO DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE LAS
VARIABLES HEMATOLÓGICAS, MORFOLÓGICAS Y
BIOQUÍMICAS DE PERROS ADULTOS, SENIOR Y GERIATRAS (1 –
7.9, 8 – 11.9 Y > 12 AÑOS DE EDAD).**

Presenta

M. EN C. ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE

Para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Comité Tutoral

DRA. ALMA LILIÁN GUERRERO BARRERA

DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN

DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES

Aguascalientes, Ags., 15 de junio de 2022.

AUTORIZACIONES



CARTA DE VOTO APROBATORIO
COMITÉ TUTORAL

MTRO. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Miembros del Comité Tutorial designado del estudiante ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE con ID 100649 quien realizó la tesis titulada: EFECTO FISIOLÓGICO DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS, MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE PERROS ADULTOS, SENIOR Y GERIATRAS (1 – 7.9, 8 – 11.9 Y > 12 AÑOS DE EDAD), un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el VOTO APROBATORIO, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE

“Se Lumen Proferre”

Aguascalientes, Ags., a 24 de junio del 2022.



Dra Alma Lilián Guerrero Barrera
Tutor de tesis



Dr. Teódulo Quezada Tristán
Co-Tutor de tesis



Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores
Asesor de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado



DICTAMEN DE LIBERACION ACADEMICA PARA INICIAR LOS TRAMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aa: 29-nov-22

NOMBRE: ANA LUISA MONTOYA NAVARRETE **ID** 100649

PROGRAMA: DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, MODALIDAD TRADICIONAL **LGAC (del posgrado):** BIOINGENIERÍA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis () Trabajo práctico

TÍTULO: EFECTO FISIOLÓGICO DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS, MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN PERROS ADULTOS, SENIOR Y GERIATRAS 1 – 7.9, 8 – 11.9 Y > 12 AÑOS DE EDAD

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):

LOS DATOS OBTENIDOS EN LA TESIS BRINDAN UN MÉTODO PARA PODER EVALUAR LOS PERFILES SANGUÍNEOS DE PERROS EN AGUASCALIENTES, MÉXICO

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

- SI El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
- SI La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
- SI Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
- SI Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
- SI Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
- SI El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
- SI Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
- NO Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

El egresado cumple con lo siguiente:

- SI Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
- SI Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
- SI Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
- NO Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
- SI Coincide con el título y objetivo registrado
- SI Tiene congruencia con cuerpos académicos
- SI Tiene el CVU del Conacyt actualizado
- SI Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados:

- SI Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
- SI El estudiante es el primer autor
- SI El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
- SI En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
- SI Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
- SI La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

SI
 No

FIRMAS

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

DRA. ALMA LILIAN GUERRERO BARRERA

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

DRA. ALMA LILIAN GUERRERO BARRERA

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asignado por el Decano.

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

DR. JUAN JÁUREGUI RINCÓN

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. JORGE MARTÍN ALFEREZ CHÁVEZ

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.



OPEN ACCESS

EDITED BY
 Nianqiao Gong,
 Huazhong University of Science and
 Technology, China

REVIEWED BY
 Katalin Pető,
 University of Debrecen, Hungary
 Iren Miko,
 University of Debrecen, Hungary

*CORRESPONDENCE
 Alma Lilián Guerrero-Barrera
 lilianguerrero@edu.uaa.mx

SPECIALTY SECTION
 This article was submitted to
 Comparative and Clinical Medicine,
 a section of the journal
 Frontiers in Veterinary Science

RECEIVED 20 July 2022
 ACCEPTED 28 October 2022
 PUBLISHED 10 November 2022

CITATION
 Montoya-Navarrete AL,
 Guerrero-Barrera AL,
 Quezada-Tristán T, Valdivia-Flores AG
 and Cano-Rábano MJ (2022) Red
 blood cells morphology and
 morphometry in adult, senior, and
 geriatricians dogs by optical and
 scanning electron microscopy.
Front. Vet. Sci. 9:998438.
 doi: 10.3389/fvets.2022.998438

COPYRIGHT
 © 2022 Montoya-Navarrete,
 Guerrero-Barrera, Quezada-Tristán,
 Valdivia-Flores and Cano-Rábano. This
 is an open-access article distributed
 under the terms of the [Creative
 Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).
 The use, distribution or reproduction
 in other forums is permitted, provided
 the original author(s) and the copyright
 owner(s) are credited and that the
 original publication in this journal is
 cited, in accordance with accepted
 academic practice. No use, distribution
 or reproduction is permitted which
 does not comply with these terms.

Red blood cells morphology and morphometry in adult, senior, and geriatricians dogs by optical and scanning electron microscopy

Ana Luisa Montoya-Navarrete¹,
 Alma Lilián Guerrero-Barrera^{1*}, Teódulo Quezada-Tristán²,
 Arturo G. Valdivia-Flores² and María J. Cano-Rábano³

¹Morphology Department, Basic Sciences Center, Autonomous University of Aguascalientes, Aguascalientes, Mexico, ²Veterinary Sciences Department, Agricultural Sciences Center, Autonomous University of Aguascalientes, Aguascalientes, Mexico, ³Department of Veterinary Medicine, Surgery and Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of León, León, Spain

Red blood cells (RBC) morphologic evaluation through microscopy optical (OM) and SEM, provides information to forecast, evaluate, and monitor the functioning of many organs. Factors, such aging and diseases affect RBC morphology in both, human and animals. SEM is useful to evaluate RBC morphology, although its use in diagnosis and evaluation in dogs is limited, due to the availability and cost. The aim of this research was to assess the normal RBC morphology in adult, senior and geriatrician dogs, clinically healthy by OM and SEM. In addition to evaluating the age effect, sex, body size, and their interaction on erythrocyte morphometry. To carry out the research 152 blood samples were evaluated from dogs of different sexes and body sizes (small, medium, and large). Three groups were made based on dogs age: group I adults (1–7.9 years old), group II senior (8–11.9 years old), and group III geriatricians (>12 years old). Erythrocyte parameters were evaluated by OM (diameter, height, and axial ratio). Per each dog, the parameters of 20 erythrocytes were measured. A total of 2,600 cells were scanned with the AmScope™ Software scale. In addition, the RBC morphology was evaluated by SEM. Statistical analyses used analysis of variance and a general linear model, which allows the comparison of multiple factors at two or more levels ($p < 0.05$). The results of this study showed that diameter and height were lower in adult dogs than in senior and geriatrician dogs ($p < 0.05$). Whereas, sex, body size, and the interaction did not show a significant effect ($p > 0.05$). Additionally, some images of anisocytosis, polychromasia, and poikilocytosis (echinocytes, acanthocytes, codocytes, spherocytes, stomatocytes, dacryocytes quatrefoil, and elliptocytes) were obtained by OM and SEM. Our study provides information about the

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al comité tutorial conformado por la Dra. Alma Lilián Guerrero Barrera, el Dr. Teódulo Quezada Tristán y el Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores por su invaluable apoyo, asesoría y conocimiento brindado en este proyecto.

Se reconoce el apoyo financiero del Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología, y de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Agradezco la asesoría en técnicas de microscopía de la Biol. Araceli Adabache Ortíz del Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido y de la AQB. Sonia Sofía Cruz Muñoz del Laboratorio de Histología y Embriología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Agradezco a mi gran amigo y colega el M en C. Carlos Leonel Hernández Millán del Laboratorio Multidisciplinario de Investigación del Centro de Ciencias agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por su invaluable apoyo técnico y moral durante el desarrollo de este proyecto.

Agradezco el apoyo de la M en C. Leticia Chávez Gonzales y de la AQB. Jeimy Janice Kenia Hernández pertenecientes al Laboratorio de Patología Diagnóstica del Centro de Ciencias agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, por sus técnico instalaciones y equipos.

Agradezco a la Dra. María José Cano Rábano de la Universidad de León, España por confiar en mi nuevamente y por compartir sus invaluable conocimientos conmigo.

Agradezco a mi gran amigo el Lic. en Docencia del idioma inglés Alejandro Pérez Castañón por su apoyo técnico en del inglés.

También quiero agradecer al personal de la clínica Amigos Pro Animal, la clínica Coopers, la Farmacia Globalvet y la clínica Bones por su apoyo con instalaciones para obtención de muestras sanguíneas.

DEDICATORIAS

A Dios que siempre ha estado presente en mi vida, por mostrarme su amor y compañía, permitiéndome lograr todos mis sueños.

A mi mejor amigo, compañero y amado esposo Juan Manuel Cruz Martínez quien siempre me apoya y alienta a cumplir mis sueños, por ser el primero en creer en mí y por siempre estar a mi lado formando una parte importante de mi vida, por toda la alegría, el amor y apoyo incondicional que aporta a mi vida.

A mis amados padres María Leticia Navarrete Centeno y José Luis Montoya Pérez las personas más ejemplares en mi vida, por enseñarme la humildad, gratitud, el respeto y la perseverancia, siempre estaré orgullosa de ustedes y de todo lo que me han enseñado.

A mis amados hermanos Alejandra, David, Daniela y Ángel por confiar en mí y alentarme a cumplir este sueño.

A mis queridos suegros Martha Martínez Pacheco y Rogelio Cruz Camarillo por todos sus consejos, cariño y apoyo desinteresado que siempre me han mostrado.

A mis amados sobrinos Iker Ismael, Luis Fernando, Gerardo, Ximena, Andrea, Evelyn, Estefany, Janis, Iker, Mateo y Alexander por toda la alegría que le dan a mi vida y por motivarme a ser una mejor tía cada día.

A mis pequeños compañeros de cuatro patas Benito, Minnie, Bolti y Megant que sin saberlo han estado conmigo cuando más los he necesitado. De manera especial todas estas aportaciones en la medicina veterinaria son inspiradas en ellos y pensando en su bienestar.

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIONES	II
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIAS	VI
ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE TABLAS	3
ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE ANEXOS	6
ACRÓNIMOS	7
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	13
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES	15
2.1. TEORIAS DEL ENVEJECIMIENTO.	15
2.2. HISTORIA DE LA GERIATRIA.....	17
2.2.1. El envejecimiento en el perro	18
2.3. HISTORIA CLÍNICA Y EXAMEN FÍSICO.....	24
2.4. HEMATOLOGÍA.	27
2.4.1. Serie roja (GR, HGB, HCT, VCM, MCH, MCHC y RDW).	27
2.4.2. Serie blanca (GB, LYM, MID, GRAN).....	29
2.4.3. Plaquetas (PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR y PLCC).	31
2.5. MORFOLOGÍA DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS.	32
2.6. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	34
2.6.1. ALT, AST, FA, GGT.	34
2.6.2. Colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas y relación A/G.....	35
2.6.3. Creatinina, BUN, urea, relación BUN/creatinina.....	36
2.6.4. Calcio, fósforo, hierro.....	37
CAPÍTULO 3: HIPOTESIS Y OBJETIVOS	39
3.1. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.	39
3.2. OBJETIVOS.....	39
3.2.1. Objetivo general.....	39
3.2.2. Objetivos específicos.	39
CAPÍTULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
4.1. UBICACIÓN Y ZONA GEOGRÁFICA.	40
4.2. ENCUESTA: EL ESTADO ACTUAL DE LOS PERROS EN AGUASCALIENTES.	40
4.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN BAJO ESTUDIO.....	41
4.3.1. Criterios de inclusión y exclusión de la población.	42
4.4. HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIÓN FÍSICA.	43

4.5. TECNICAS DE LABORATORIO.....	44
4.5.1. Hematología.....	44
4.5.2. Microscopía óptica (MO).....	46
4.5.3. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	49
4.5.4. Bioquímica sanguínea.....	50
4.6. ANALISIS ESTADÍSTICO.....	57
CAPÍTULO 5: RESULTADOS.....	59
5.1. ENCUESTA.....	59
5.2. EXPLORACIÓN FÍSICA.....	65
5.2.1. Constantes fisiológicas (FC, FR y temperatura rectal).....	65
5.2.2. Puntaje de disfunción cognitiva canina.....	66
5.3. HEMATOLOGÍA.....	68
5.3.1. Serie roja (GR, HGB, HCT, VCM, MCH, MCHC y RDW).....	68
5.3.2. Serie blanca (GB, LYM, MID, GRAN relativos y absolutos).....	71
5.3.3. Plaquetas (PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR y PLCC).....	73
5.4. MICROSCOPIA ÓPTICA.....	79
5.4.1. Serie roja (tamaño, color, forma, distribución, cuerpos de inclusión y <i>parásitos eritrocitarios</i>).....	79
5.4.2. Serie blanca (leucocitos, diferencial, morfología).....	82
5.4.3. Plaquetas (agregación plaquetaria y morfología).....	86
5.4.4. Parámetros eritrocitarios (diámetro, altura y relación axial).....	88
5.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).....	90
5.6. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	94
5.6.1. ALT, AST, FA, GGT.....	94
5.6.2. Colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas y relación A/G.....	95
5.6.3. Creatinina, BUN, urea, relación BUN/creatinina.....	98
5.6.4. Calcio, fósforo, hierro.....	100
CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	104
6.1 ENCUESTA.....	104
6.2 EXPLORACIÓN FÍSICA.....	107
6.2.1. Constantes fisiológicas (temperatura rectal, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria).....	107
6.2.2. Puntaje de disfunción cognitiva.....	109
6.3 HEMATOLOGÍA.....	110
6.3.1. Serie roja (RDW).....	110
6.3.2. Serie blanca (GB, LYM, MID, GRAN relativos y absolutos).....	110
6.3.3. Plaquetas (PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR y PLCC).....	110
6.4. MICROSCOPIA ÓPTICA.....	111
6.4.1. Serie roja (tamaño, color, forma, distribución, cuerpos de inclusión y <i>parásitos eritrocitarios</i>).....	111
6.4.2. Serie blanca (leucocitos, diferencial).....	113
6.4.3. Plaquetas.....	113
6.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).....	114
6.6. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	114
6.6.1. ALT, AST, FA, GGT.....	114
6.6.2. Colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas y relación A/G.....	115
6.6.3. Creatinina y relación BUN/creatinina.....	116
6.6.4. Calcio y fósforo.....	117
CONCLUSIONES.....	118
REFERENCIAS.....	119
ANEXOS.....	144

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de las técnicas de laboratorio.	52
Tabla 2. Número de encuestas electrónicas realizadas en diferentes municipios del Estado de Aguascalientes, total de habitantes y perros como mascota.	59
Tabla 3. Contantes fisiológicas (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal,) y puntaje de CCD en perros de diferentes edades.	67
Tabla 4. Intervalos de referencia de los componentes hematológicos según la etapa de vida del perro (adultos, senior y geriatras).	77
Tabla 5. Análisis de frecuencia de las variables evaluadas en el frotis de sangre de una población de perros ($n= 129$) de diferentes edades: adultos ($n=44$), adultos mayores ($n=41$) y geriátricos ($n=44$).	80
Tabla 6. Intervalos de referencia de los componentes hematológicos del frotis sanguíneo según la etapa de vida del perro.	87
Tabla 7. Parámetros de los glóbulos rojos (RBC) evaluados por microscopía óptica (MO).	88
Tabla 8. Intervalos de referencia de los componentes bioquímicos según la etapa de vida del perro (adultos, senior y geriatras).	102



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales mecanismos del envejecimiento.	16
Figura 2. Ilustración esquemática de las alteraciones fisiológicas relacionadas con la edad y sus mecanismos celulares subyacentes. Fuente: (Fleyshman et al., 2021).	20
Figura 3. Modelo de trabajo simplificado de la hematopoyesis.	28
Figura 4. Ubicación geográfica del estudio.	40
Figura 5. Cuadro de analogía humano/mascota.	42
Figura 6. Exploración física.	44
Figura 7. Obtención de muestra sanguínea.	44
Figura 8. Procedimiento de la hematología completa en Hemalyzer 2000.	45
Figura 9. Procedimiento de frotis sanguíneo.	46
Figura 10. Evaluación microscópica del frotis sanguíneo.	47
Figura 11. Frotis de sangre de perros sanos, que muestra las posiciones para los cálculos de diámetro y altura a partir de micrografías ópticas utilizando el software AmScope. Se midió el diámetro o eje mayor en los eritrocitos y se trazó una línea perpendicular en el centro del diámetro para establecer la altura. Barra de escala = 7 μ m.	49
Figura 12. Microscopio electrónico de barrido JEOL.	50
Figura 13. Obtención de suero sanguíneo.	51
Figura 14. Espectrofotómetro BTS-350 BioSystems.	51
Figura 15. Control de calidad.	53
Figura 16. Principales razones por las que los habitantes de Aguascalientes no tienen un perro como mascota.	60
Figura 17. Número de perros que tienen los habitantes de Aguascalientes.	60
Figura 18. Etapa de vida del perro que prefieren los habitantes de Aguascalientes propietarios de mascotas.	61
Figura 19. Clasificación por edad en la que se encuentran los perros con propietario de Aguascalientes.	61
Figura 20. Actividades que realizan los propietarios de perros en Aguascalientes para conseguir una vejez saludable de su mascota.	62
Figura 21. Clasificación por tamaño corporal en la que se encuentran los perros con propietario de Aguascalientes.	62
Figura 22. Clasificación por tipo de raza (pura) a la que pertenecen los perros con propietario de Aguascalientes.	63
Figura 23. Nombres comerciales de croquetas seleccionadas por los propietarios de perros como mascotas en Aguascalientes.	64
Figura 24. Puntuación de disfunción cognitiva del perro (CCD).	66
Figura 25. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.	69
Figura 26. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.	70
Figura 27. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.	72
Figura 28. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.	75
Figura 29. Efecto del sexo y del tamaño corporal sobre algunos componentes hematológicos.	76
Figura 30. Micrografía óptica de frotis sanguíneo de perros sanos a 100x.	79
Figura 31. Micrografías ópticas a 100x de perros senior y geriatras.	81
Figura 32. Micrografías ópticas a 100 x de perros sanos, que muestran la poiquilocitosis (formas anormales de eritrocitos).	81
Figura 33. Micrografías ópticas a 100 x de perros sanos, que muestran la poiquilocitosis (formas anormales de eritrocitos).	82
Figura 34. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida y tamaño corporal del perro.	84
Figura 35. Morfología leucocitaria en perros sanos.	85
Figura 36. Morfología leucocitaria en perros sanos.	85
Figura 37. Morfología leucocitaria en perros sanos.	86

Figura 38. Medidas de los parámetros morfométricos de los eritrocitos en diferentes etapas de la vida del perro..... 89

Figura 39. Imágenes SEM de células sanguíneas normales y anormales en perros adultos..... 91

Figura 40. Imágenes SEM de células sanguíneas normales y anormales en perros senior..... 92

Figura 41. Imágenes SEM de células sanguíneas normales y anormales en perros geriátricos..... 93

Figura 42. Actividad enzimática en sangre de perro en diferentes etapas de vida. 95

Figura 43. Concentración de analitos bioquímicos en sangre de perro en diferentes etapas de vida. 97

Figura 44. Concentración de analitos bioquímicos en sangre de perro en diferentes etapas de vida. 98

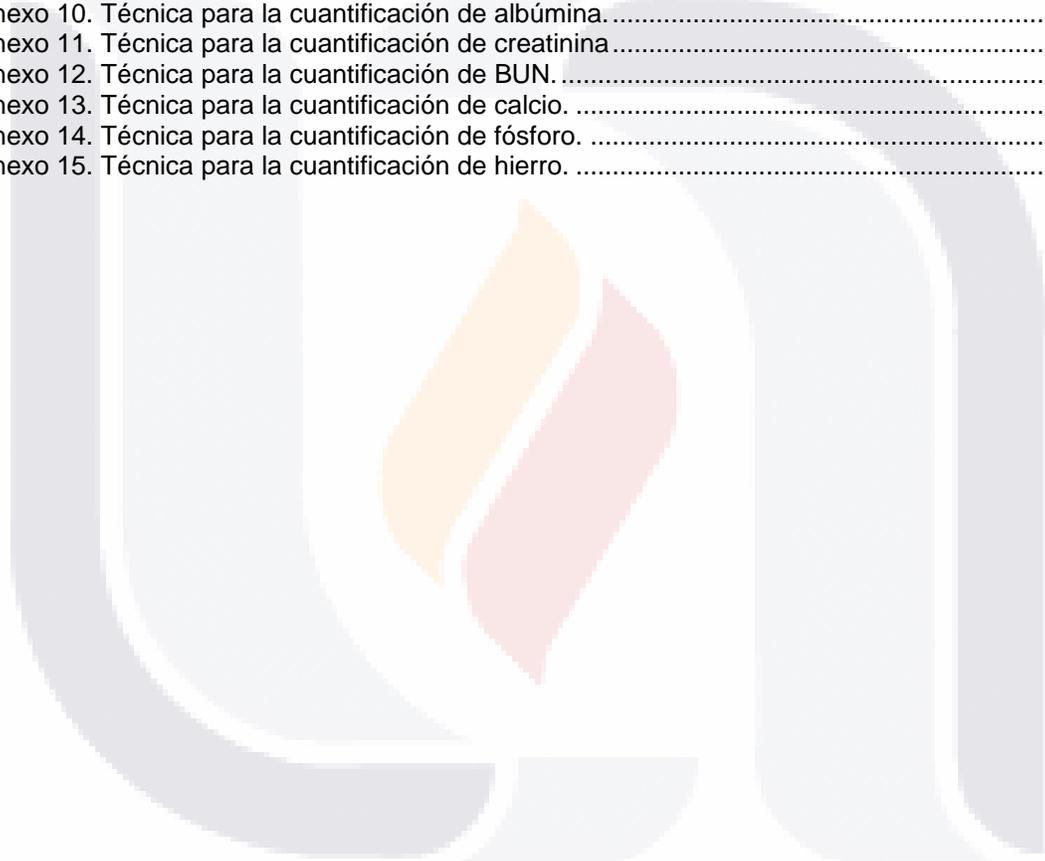
Figura 45. Efecto del sexo y del tamaño corporal sobre los analitos bioquímicos. 99

Figura 46. Concentración de analitos bioquímicos en sangre de perro en diferentes etapas de vida. 101



ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Detección de perros senior y geriatras aparentemente sanos: cuestionario para propietarios.....	144
Anexo 2. Hoja clínica.....	148
Anexo 3. Técnica para cuantificación de la actividad enzimática de alanino aminotransferasa. ...	149
Anexo 4. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática aspartato aminotransferasa. .	150
Anexo 5. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de fosfatasa alcalina.	151
Anexo 6. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de γ -glutamil transferasa.	152
Anexo 7. Técnica para la cuantificación de colesterol.	153
Anexo 8. Técnica para la cuantificación de glucosa.	154
Anexo 9. Técnica para la cuantificación de proteínas totales.....	155
Anexo 10. Técnica para la cuantificación de albúmina.....	156
Anexo 11. Técnica para la cuantificación de creatinina.....	157
Anexo 12. Técnica para la cuantificación de BUN.....	158
Anexo 13. Técnica para la cuantificación de calcio.....	159
Anexo 14. Técnica para la cuantificación de fósforo.....	160
Anexo 15. Técnica para la cuantificación de hierro.....	161



ACRÓNIMOS

ADN	Ácido desoxirribonucleico	GP	Progenitor de granulocitos
ADNmt	ADN mitocondrial	GR	Glóbulos rojos
ADP	Adenosín difosfato	GRAN	Granulocitos
A/G	Relación albumina-globulina	h	Hora
ALT	Alanina aminotransferasa	HCT	Hematocrito
AMGG	Asociación Mexicana de Gerontología y Geriátría	HCM	Contenido medio de hemoglobina de los eritrocitos
AST	Aspartato aminotransferasa	HGB	Hemoglobina
ATP	Adenosín trifosfato	HSC	Célula madre hematopoyética
ANOVA	Análisis de varianza	IC	Intervalo de confianza
ARN	Ácido ribonucleico	ICC	Insuficiencia cardiaca congestiva
ASVCP	American Society for Veterinary Clinical Pathology	IFCC	Federación Internacional de Química Clínica
BCG	Verde de bromocresol	INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
BLP	Progenitor de linfocitos B	INSEN	Instituto Nacional de la Senectud
BMaP	Progenitor de mastocitos y basófilos	IR	Intervalo de referencia
BTS-350	Equipo de espectrofotometría Nitrógeno ureico	IQR	Rango intercuartílico
BUN	Relación BUN-creatinina	Kg	Kilogramo
BUN/creat	Reglamento de Ética para el uso de Animales en la Docencia e Investigación de la Universidad Autónoma de Aguascalientes	LCR	Líquido cefalorraquídeo
CEADI-UAA		LYM	Linfocitos
CCD	Disfunción cognitiva canina	LDH	Lactato deshidrogenasa
CDP	Progenitor dendrítico común	lpm	Latidos por minuto
CID	Coagulación intravascular diseminada	LL	Límite inferior del intervalo de referencia
CLP	Progenitor linfoide común	M	Media
CLM	Progenitor mielóide común	MDH	Malato deshidrogenasa
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute	mg/dl	Miligramo por decilitro
CMHC	Concentración media de hemoglobina corpuscular	MaP	Progenitor de mastocitos
DEM	Demencia	MDP	Progenitor de células dendríticas de monocitos
dL	Decilitro	MEB	Microscopía Electrónica de Barrido
e	Error de estimación máximo aceptado	MID	Monocitos
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético	min	Minuto
EA	Enfermedad de Alzheimer	MkEP	Progenitor megacariocito-eritroide
ENBIARE	Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado	MkP	Progenitor de megacariocitos
EP	Progenitor eritroide	MO	Microscopía Óptica
ERC	Enfermedad renal crónica	ml	Mililitro
EoP	Progenitor de eosinófilos	MLG	Modelo Lineal General
FA	Fosfatasa alcalina	mm3	Milímetro cúbico
FC	Frecuencia cardiaca	MPV	Volumen plaquetario medio
fL	Femtolitro	NKP	Progenitor de células asesinas naturales
FR	Frecuencia respiratoria	Nm	Longitud de onda
g/dL	Gramos por decilitro	°C	Grados Celsius
g/L	Gramos por litro	p	Probabilidad
GEMAC	Sociedad de Geriátría y	PBS	Buffer fosfato salino
		PCT	Plaquetocrito

GB	Gerontología de México A.C. Glóbulos blancos	PDW	Ancho de distribución plaquetario
GGT	Gama glutamil transferasa	P-LCC	Recuento de plaquetas-células grandes
GLDH	Glutamato deshidrogenasa	P-LCR	Cociente plaquetas-células grandes
GLUPA-C	L-Y-glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilido	PLQ	Plaquetas
GMP	Progenitor de granulocitos-monocitos	p-NPP	p-nitrofenilfosfato
PTH	Hormona paratiroidea	μmol	Micromol
q	Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado	μg/dL	Microgramos por decilitro
RDW	Amplitud de distribución eritrocitaria	n	Tamaño de muestra
RPM	Revoluciones por minuto	N	Tamaño de población
rpm	Respiraciones por minuto	NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
RFC	Fuerza centrífuga relativa	NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
SD	Desviación estándar	NK	Asesino natural
TFG	Tasa de filtración glomerular	mmol	Milimol
TLLC	Tiempo de llenado capilar	<	Menor que
TLP	Progenitor de linfocitos T	>	Mayor que
T/NKP	Progenitor de células asesinas naturales de linfocitos T	%	Por ciento
UL	Límite superior del intervalo de referencia	VCM	Volumen corpuscular medio de los hematíes
U/L	Unidades por litro	x	Aumento (10x, 40x, 100x)
UAA	Universidad Autónoma de Aguascalientes	Z	Parámetro estadístico que depende el nivel de confianza y colaboradores
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México	et al.,	y
μL	Microlitro	&	Igual
μm	Micrómetro	=	Igual
		λ	Lambda óptima

RESUMEN

Introducción: La hematología, el frotis sanguíneo y la bioquímica sanguínea son algunas de las pruebas de laboratorio que pueden aportar información para el pronóstico, evaluación y monitoreo de un paciente, sin embargo, los cambios fisiológicos pueden estar influenciados por varios factores; entre los que se sitúa el envejecimiento.

Objetivo: Identificar el efecto fisiológico del envejecimiento sobre las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas de perros adultos (1 - 7.9 años), senior (8 – 11.9 años) y geriatras (>12 años) para obtener intervalos de referencia específicos.

Métodos: Fueron recolectadas un total de 152 muestras de sangre de perros de diferentes sexos y tamaños corporales (pequeño, mediano y grande). Los grupos de animales se agruparon en función de su edad: grupo I adultos (1 a 7,9 años), grupo II senior (8 a 11,9 años) y grupo III geriatras (> 12 años). Se realizó una hematología completa con un analizador automatizado y una bioquímica sanguínea: alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA), gamma glutamil transferasa (GGT), colesterol, glucosa, proteínas totales, albúmina, globulinas, A/G, creatinina, BUN, urea, BUN/creatinina, hierro, fósforo y calcio mediante espectrofotometría. Además, se realizaron frotis de sangre y se evaluaron las células sanguíneas por medio de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB). En el análisis estadístico se realizaron pruebas de normalidad de Anderson-Darling, de homogeneidad de varianzas y un análisis de varianza (ANOVA) con un modelo lineal general (MLG) por medio del software estadístico Minitab 17, con un nivel de significancia $p < 0.05$.

Resultados: Se observó un efecto significativo de la edad sobre las variables RDW, GB, GRAN, PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR, linfocitos, neutrófilos, proteínas totales, globulinas, calcio, fósforo, puntaje cognitivo y parámetros eritrocitarios ($p < 0.05$). El sexo mostró un efecto sobre MID, P-LCR, P-LCC, GGT y colesterol ($p < 0.05$). Mientras que el tamaño corporal tuvo un efecto sobre RDW, P-LCC, PLT, creatinina y BUN/creatinina ($p < 0.05$). Se obtuvieron imágenes de la morfología de las células sanguíneas mediante MO y MEB. Además, con el software estadístico RefValAdv 2.1 se obtuvieron los intervalos de referencia (IR) con un intervalo de confianza (IC) del 90 %.

Conclusión: Se debe considerar el efecto fisiológico del envejecimiento sobre las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas, al interpretar los resultados y emitir un diagnóstico clínico veterinario en perros senior y geriatras.

Palabras clave

Geriatría veterinaria, perros senior, perros geriatras, hematología, bioquímica sanguínea, morfología hemática, microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido.

ABSTRACT

Introduction: Hematology, blood smears, and blood biochemistry are some of the laboratory tests that can provide information for the prognosis, evaluation, and monitoring of a patient, however, physiological changes can be influenced by several factors; including aging.

Objective: To identify the physiological effect of aging on hematological, morphological, and biochemical variables of adult (1 - 7.9 years), senior (8 - 11.9 years), and geriatric (>12 years) dogs to obtain specific reference intervals.

Methods: A total of 152 blood samples were collected from dogs of different sexes and body sizes (small, medium, and large). The groups of animals were grouped according to their age: adult group I (1 to 7.9 years), senior group II (8 to 11.9 years), and geriatric group III (> 12 years). Complete hematology was performed with an automated analyzer and blood biochemistry: alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AP), gamma-glutamyl transferase (GGT), cholesterol, glucose, total proteins, albumin, globulins, A/G, creatinine, BUN, urea, BUN/creatinine, iron, phosphorus and calcium by spectrophotometry. In addition, blood smears were performed and blood cells were evaluated by light microscopy (OM) and scanning electron microscopy (SEM). In the statistical analysis, Anderson-Darling normality tests, homogeneity of variances, and an analysis of variance (ANOVA) were performed with a general linear model (GLM) using the statistical software Minitab 17, with a level of significance $p < 0.05$.

Results: A significant effect of age was observed on the variables RDW, GB, GRAN, PLQ, MPV, PDW, PCT, P-CSF, lymphocytes, neutrophils, total proteins, globulins, calcium, phosphorus, cognitive score, and erythrocyte parameters ($p < 0.05$). Sex showed an effect on MID, P-CSF, P-LCC, GGT, and cholesterol ($p < 0.05$). While body size had an effect on RDW, P-LCC, PLT, creatinine, and BUN/creatinine ($p < 0.05$). Images of blood cell morphology were obtained by OM and SEM. In addition, with the statistical software RefValAdv 2.1, the reference intervals (IR) with a confidence interval (CI) of 90% were obtained.

Conclusion: The physiological effect of aging on hematological, morphological, and biochemical variables should be considered when interpreting the results and issuing a veterinary clinical diagnosis in senior and geriatric dogs.

Keywords

Veterinary geriatrics, senior dogs, geriatric dogs, hematology, blood biochemistry, blood morphology, optical microscopy, scanning electron microscopy.

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento no se debe considerar como una enfermedad. Sin embargo, es una etapa en donde las alteraciones patológicas son más prevalentes (Cervantes, 2012). Es difícil definir etapas de vida en perros, basadas en la edad cronológica, puesto que distintas razas tienen velocidades de envejecimiento, estilos de vida y esperanzas de vida diferentes (Davies, 2007).

Las pruebas de hematología y bioquímica sanguínea son más objetivas y sensibles en la detección de enfermedades, que un examen físico por sí solo. El frotis sanguíneo es muy importante especialmente en pacientes senior y geriátricos, porque son comunes los cambios en eritrocitos, leucocitos y trombocitos en estos pacientes, además pueden dar pistas sobre enfermedades subclínicas (Metzger & Rebar, 2012).

En la actualidad, existe una creciente población de mascotas en proceso de maduración, con ello, es necesario comprender los efectos fisiológicos del envejecimiento en las pruebas rutinarias, comúnmente utilizadas en la medicina veterinaria (Lee et al., 2020; Metzger & Rebar, 2012; Radakovich et al., 2017). Puesto que, la detección temprana de una enfermedad puede ayudar a mejorar la calidad de vida, especialmente en perros de edad avanzada y en sus propietarios (Metzger & Rebar, 2012).

Sin embargo, el efecto fisiológico del envejecimiento sobre los resultados de hematología y bioquímica sanguínea, no ha sido bien documentado (Lee et al., 2020), en base a ello y al reciente interés en la investigación de perros de edad avanzada (Alexander et al., 2018; Lee et al., 2020; Radakovich et al., 2017; Willems et al., 2017) el objetivo de este estudio fue identificar el efecto fisiológico del envejecimiento sobre las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas de perros adultos (1 - 7.9 años), senior (8 – 11.9 años) y geriatras (>12 años) para obtener intervalos de referencia específicos.

CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El efecto del envejecimiento en los resultados hematológicos y bioquímicos en la sangre de perros ha sido evaluado por algunos autores desde 1990, sin embargo, no establecieron intervalos de referencia específicos para perros senior y geriatras. En otros estudios solo se han establecido en perros adultos < 6 años de edad, además todos estos trabajos fueron realizados bajo ciertas condiciones geográficas, climáticas, nutricionales, en ambientes controlados y con perros de una raza específica principalmente beagle, pastor alemán y labrador (Bossa-Miranda et al., 2012; Harper et al., 2003; Lavoue et al., 2014; Lowseth et al., 1990; Pedrozo et al., 2010; Strasser et al., 1993).

Un estudio examino una gran variedad de razas de perros con el objetivo de establecer intervalos de referencia para parámetros hematológicos y químicos, dependiendo de su edad, sexo y alimentación (Schafers et al., 2013). Sin embargo, los autores se basaron principalmente en perros de 1 a 9 años de edad, sin centrarse en perros senior y geriatras. Por lo tanto, los intervalos de referencia de la hematología y bioquímica sanguínea no son específicos para los perros senior (8-11.9 años de edad) y geriatras (> 12 años de edad).

Además, dado el impacto del envejecimiento en la vida tanto de los perros como de sus dueños, llama la atención que si bien la medicina veterinaria, al igual que la medicina humana, cuenta con un amplio conjunto de especialidades, como cardiología, oncología, parasitología, nutrición, entre otros, faltan notablemente la geriatría. Tanto los propietarios de perros como los veterinarios pueden reconocer a un perro mayor y las enfermedades que vienen con la edad. Pero el conocimiento profundo del envejecimiento que posee un geriatra humano aún no existe en el panorama veterinario (McCune & Promislow, 2021). Esto alienta a las investigaciones relacionadas con el envejecimiento en medicina veterinaria.

Ahora bien, las consideraciones expuestas nos llevan a plantear la siguiente interrogante: ¿Qué efecto fisiológico tiene el envejecimiento sobre las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas de perros senior (8 – 11.9 años) y geriatras (>12 años) en comparación con las variables de perros adultos (1 - 7.9 años)?

1.1. JUSTIFICACIÓN.

En la actualidad, en medicina veterinaria existe un creciente interés por evaluar el efecto fisiológico que tiene el envejecimiento en algunas especies animales, como el perro, debido al incremento de perros que envejecen en el mundo (Alexander et al., 2018; Lee et al., 2020; Radakovich et al., 2017). Sin embargo, en comparación con los humanos es poco lo que se sabe sobre el impacto del envejecimiento en el perro (McCune & Promislow, 2021). Además estudios recientes mencionan que los resultados de hematología y bioquímica sanguínea en relación con la edad en perros, no han sido bien documentados (Bellows et al., 2015; Lee et al., 2020; Willems et al., 2017).

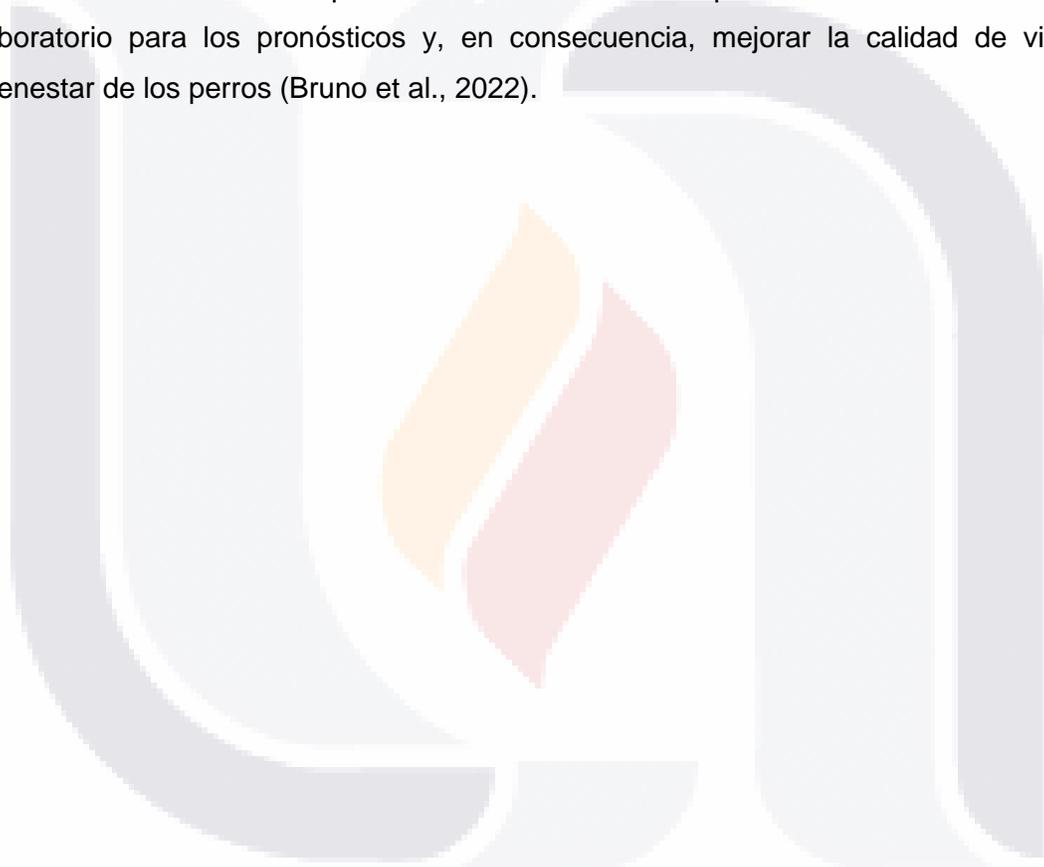
Existen algunas investigaciones en donde se identificó un efecto de la edad sobre las variables hematológicas y bioquímicas de cachorros en comparación con adultos, en donde sugieren que los intervalos de referencia para adultos no deben usarse en cachorros, puesto que, causaría una inadecuada interpretación de los resultados (Misbach et al., 2014; O'Brien et al., 2014; Rortveit et al., 2015; von Dehn, 2014). De la misma forma un estudio previo a este, realizado por nosotros, evaluó el efecto de la edad sobre las variables bioquímicas (Montoya Navarrete et al., 2021) donde se demostró que los cachorros y adultos son fisiológicamente diferentes. Por consiguiente, estas situaciones también pudieran ocurrir en la interpretación de resultados hematológicos y bioquímicos de perros senior y geriatras, adicional a las diferencias fisiológicas relacionadas con el envejecimiento que pueden tener en comparación con los perros jóvenes.

Aunque se debe tener en cuenta que un resultado por sí mismo es de poco valor si no se acompaña de la información adecuada para su interpretación (Katayev et al., 2010), es importante conocer, que tanto la hematología como la bioquímica sanguínea son pruebas más objetivas y específicas para la evaluación de condiciones fisiológicas que un examen físico por sí solo, especialmente en perros senior y geriatras (Metzger & Rebar, 2012).

Por lo tanto, la interpretación de los resultados hematológicos y bioquímicos en base a un intervalo de referencia inapropiado puede conducir a un diagnóstico y tratamiento inadecuado (Brenten et al., 2016; Chung et al., 2016). Idealmente los resultados de hematología y bioquímica sanguínea en perros de edad avanzada, deben interpretarse con intervalos de referencia desarrollados específicamente para perros senior y geriatras, en lugar de intervalos de referencia para perros adultos (Bellows et al., 2015). El médico veterinario debe de considerar la posibilidad que existe de provocar complicaciones que

requieran de una hospitalización que, por su parte, puede contribuir a disminuir la calidad de vida del perro envejecido y a su vez incrementar los gastos del propietario, estrés y preocupación por la salud de su mascota. Sin contar que esta serie de situaciones pueden ser atribuibles a la muerte del paciente por emitir un diagnóstico y tratamiento inoportuno, debido a una incorrecta interpretación de los resultados químicos séricos y hematológicos en el perro senior y geriatra.

Los cambios morfológicos y funcionales durante la senilidad dan lugar a cambios en órganos y tejidos. Incluso en perros sanos, los parámetros de laboratorio pueden diferir, lo que dificulta el tratamiento preventivo. Esto resalta la importancia de las evaluaciones de laboratorio para los pronósticos y, en consecuencia, mejorar la calidad de vida y el bienestar de los perros (Bruno et al., 2022).



CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES

2.1. TEORIAS DEL ENVEJECIMIENTO.

El envejecimiento se caracteriza por una pérdida progresiva de la integridad fisiológica, lo que conduce a una función deteriorada y una mayor vulnerabilidad a la muerte (López-Otín et al., 2013). La gran cantidad de investigaciones realizadas sobre el envejecimiento y los procesos relacionados con el envejecimiento hace que sea casi imposible dar una visión completa de las teorías sobre el envejecimiento que se han presentado. Sin embargo, la mayoría de estos, pueden clasificarse: teorías de daño, hipótesis de programa y teorías combinadas (da Costa et al., 2016).

Entre las teorías del daño, una idea predominante es la del daño oxidativo, la teoría de los radicales libres del envejecimiento proporciona explicaciones para los fenómenos del envejecimiento, incluidas las conexiones entre el promedio de vida de los mamíferos y sus tasas metabólicas basales (Harman, 1981). Otra teoría de daño que prevalece como causa del envejecimiento es la inestabilidad del genoma, tanto la estabilidad como la integridad del ácido desoxirribonucleico (ADN) se ven desafiadas continuamente por numerosos factores endógenos y exógenos, incluidos los errores de replicación del ADN y los agentes físicos, químicos y biológicos (López-Otín et al., 2013). Por otro lado, la mayoría de los partidarios de la teoría de la inestabilidad genómica del envejecimiento se refieren al acortamiento de los telómeros (Kruk et al., 1995). Las mutaciones y deleciones en el ADN mitocondrial (ADNmt) también pueden contribuir al envejecimiento. Este tipo de ADN es extremadamente denso en genes y codifica numerosos factores que son críticos para la fosforilación oxidativa (da Costa et al., 2016).

Las teorías del envejecimiento programado, a veces denominadas teorías del envejecimiento activo o adaptativo, sugieren que existe un deterioro deliberado con la edad porque una vida útil limitada genera beneficios evolutivos (Goldsmith, 2012). Uno de los primeros esfuerzos para desarrollar una teoría unificada del envejecimiento formuló cuatro postulados: (1) el envejecimiento es universal y, como tal, un fenómeno asociado con el envejecimiento debe ocurrir en todos los individuos de una especie, aunque en diferentes grados; (2) el envejecimiento debe ser intrínseco (3) el envejecimiento es progresivo y debe ocurrir gradualmente a lo largo de la vida y; (4) debe ser perjudicial, un fenómeno asociado con el envejecimiento solo se considerará parte del proceso de envejecimiento si no presenta ventajas para el individuo (Strehler, 1976). No obstante, las

teorías combinadas ven el envejecimiento como un proceso altamente interconectado a nivel de sistemas, regulado a través de circuitos de retroalimentación entre niveles de organización biológica (Kriete et al., 2006).

Sin embargo, a pesar de la teoría, todas apuntan a responder una pregunta: ¿cuál es la causa del envejecimiento? Independientemente de la hipótesis de trabajo, se debe considerar que la suposición de que existe una sola causa del envejecimiento puede no ser correcta. Además, los gerontólogos quizá tengan que enfrentarse a la posibilidad de que no exista una causa universal de envejecimiento válida para todos los organismos vivos (da Costa et al., 2016).

Recientemente se han designado nueve factores principales que contribuyen al envejecimiento de los mamíferos mostrados en la figura 1:

- 1) Inestabilidad genómica
- 2) Desgaste de los telómeros
- 3) Alteraciones epigenéticas
- 4) Alteración de la proteostasis
- 5) Desregulación de la detección de nutrientes
- 6) Disfunción mitocondrial
- 7) Senescencia celular
- 8) Agotamiento de células madre
- 9) Comunicación intercelular alterada (López-Otín et al., 2013).

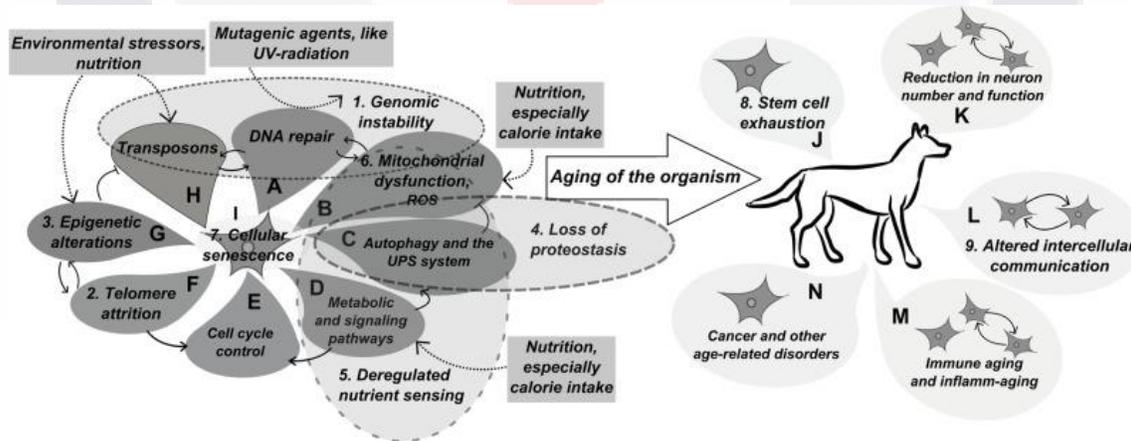


Figura 1. Principales mecanismos del envejecimiento.

La figura representa el mecanismo que subyace al envejecimiento celular y, en consecuencia, al envejecimiento de un organismo multicelular. Los principales mecanismos definidos como distintivos del envejecimiento por López-Otín et al. en 2013 están numerados según su orden en el texto principal.

2.2. HISTORIA DE LA GERIATRIA

Ignatz L. Nascher, considerado el "padre de la geriatría", acuñó en 1909 en Nueva York, el término "geriatría (geras=vejez, iatrikos=tratamiento) para cubrir en la vejez el campo que está cubierto por la pediatría en la niñez y hacer énfasis en la necesidad de considerar la vejez y sus enfermedades aparte de la madurez y así asignarle un lugar separado en medicina". A pesar del nacimiento temprano de la geriatría en Estados Unidos, fue hasta 1968 cuando se inició el primer programa de geriatría como subespecialidad y en 1975 el primer programa como especialidad (Libow, 1990).

Un antecedente relevante sobre el envejecimiento en nuestro país recae en el Dr. Manuel Paynó en 1957, quien promueve y representa al Gobierno de México en el primer Congreso Panamericano de Gerontología en la Ciudad de México (Gutiérrez Robledo & Lozano Ascencio, 1996), sin embargo, hasta los años setenta realmente cobra importancia el tema del envejecimiento. En esa misma época le sigue el surgimiento de diferentes instituciones relacionadas con la Geriatría como la Sociedad de Geriatría y Gerontología de México A. C. (GEMAC) en 1977, el Instituto Nacional de la Senectud (INSEN) el 22 de agosto de 1979 y en 1984 por iniciativa del Dr. Lozano Cardoso inicia sus actividades la Asociación Mexicana de Gerontología y Geriatría (AMGG). En 1985 se cuenta con la primera maestría en ciencias con orientación en Geriatría en la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía del Instituto Politécnico Nacional. La asignatura de Geriatría inicia en la escuela de medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en 1989 (Leal Mora et al., 2006).

Mientras que en medicina veterinaria es hasta principios de la década de 1990, cuando se comienza a considerar el concepto de un programa de salud y bienestar geriátrico en la enseñanza veterinaria. A pesar del buen desempeño de los veterinarios en el manejo de enfermedades relacionadas con la edad, en general, ni los veterinarios ni los propietarios "buscaban" problemas subclínicos o tempranos. El concepto "*Senior Care*" comenzó a mediados de la década de 1990 cuando *Pfizer Animal Health* implementó este concepto como marketing nacional. A partir de ahí los programas de atención médica para senior/geriatras han evolucionado en otros protocolos con enfoque clínico (Fortney, 2012). Sin embargo, según la evidencia histórica en México hace poco más de tres décadas que surgió la especialización de Geriatría, mientras que de la Geriatría veterinaria no se tiene un registro de sus inicios en México y tampoco existe una especialización.

2.2.1. El envejecimiento en el perro

La población de perros que envejece está creciendo significativamente, de manera similar al aumento en el número de adultos mayores en la población humana. Actualmente, los perros viven más debido al cuidado de sus dueños, quienes les brindan una dieta balanceada, ejercicio y entrenamiento regular, cuidado dental e interacciones sociales, pero también exámenes preventivos por parte de los veterinarios (Szabó et al., 2016). Después de alcanzar la madurez física y sexual, todos los perros experimentan el envejecimiento, que puede definirse pragmáticamente como “la acumulación progresiva de cambios con el tiempo asociados o responsables de la susceptibilidad cada vez mayor a la enfermedad y la muerte” (Harman, 1981).

En general, definir a una mascota senior o geriátrica es algo arbitrario, porque muchos factores influyen en el envejecimiento, incluyendo la genética y nutrición, así como factores ambientales tales como la temperatura, humedad, exposición a la radiación ultravioleta, los contaminantes y carcinógenos. Además, los factores económicos, que incluyen la capacidad y la voluntad de buscar atención veterinaria de calidad, que influyen en la salud (Metzger, 2005). La gerociencia veterinaria actualmente carece de herramientas confiables para evaluar la edad biológica de los animales individuales (McKenzie et al., 2022).

En los humanos, se considera que la edad de 56 a 60 años es el comienzo de la vejez. La mediana edad comienza entre los 42 y los 45 años este es el momento en que generalmente comienza la evaluación del bienestar de las personas mayores. La mediana edad equivaldría aproximadamente a los 7 u 8 años de edad para la mayoría de los perros (excepto los perros de razas grandes que pueden llegar a la mediana edad uno o dos años antes) (Epstein et al., 2005). También debemos considerar la variabilidad en el envejecimiento entre diferentes razas. Por lo general, los perros de raza grande se consideran senior a los 6-7 años, mientras que en las razas pequeñas no lo es hasta los 10 años (Szabó et al., 2016).

El perro doméstico se encuentra entre las especies de mamíferos más variables en términos de morfología, comportamiento, riesgo de enfermedades relacionadas con la edad y esperanza de vida (Creevy et al., 2022). La relación entre el tamaño y la vida útil es compleja. Las especies más grandes normalmente sobreviven a las especies más pequeñas, pero dentro de las especies, los individuos más pequeños generalmente sobreviven a los más grandes (Selman et al., 2013). El gran tamaño corporal es uno de

los mejores predictores de una larga vida útil en las especies de mamíferos. En contraste existe evidencia que, dentro de las especies los individuos más grandes en realidad tienen una vida más corta. Este costo aparente de un tamaño más grande es especialmente evidente en el perro doméstico, donde la selección artificial ha llevado a razas que varían en tamaño corporal y en la esperanza de vida. El costo de supervivencia en un ejemplar de gran tamaño pueden pagarse en diferentes etapas del ciclo de vida como: en una mortalidad temprana más alta, un inicio temprano de la senescencia o una tasa de envejecimiento elevada (Kraus et al., 2013). Por lo tanto, las razas de perros más grandes viven menos que las más pequeñas, lo contrario de la relación masa-vida observada en las especies de mamíferos (Fan et al., 2016).

La implementación práctica de esta evaluación geriátrica en el perro requerirá seleccionar elementos del fenotipo de envejecimiento canino y los mecanismos de envejecimiento subyacentes que los médicos puedan identificar y medir fácilmente. Es probable que estos elementos provengan de los cambios relacionados con la edad:

- Cambios físicos
- Cambios funcionales
- Cambios en el comportamiento
- Cambios metabólicos y candidatos a biomarcadores
- Fragilidad
- Calidad de vida y carga del cuidador
- Enfermedad clínica asociada a la edad (McKenzie et al., 2022).

2.2.1.1. Efectos físicos, fisiológicos, metabólicos e inmunológicos.

Todos los animales experimentan un proceso de envejecimiento en el que los cambios bioquímicos y celulares conducen a la senescencia progresiva de células, órganos y a una reducción de la reserva funcional (Frye et al., 2022).

El envejecimiento afecta a todos los sistemas del cuerpo. Los propietarios pueden reconocer muchos de los cambios físicos asociados con el envejecimiento, como la obesidad, la cojera y los cambios en la piel, esta última se vuelve más gruesa, hiperpigmentada, hiperqueratinizada y menos elástica. Disminuye la masa muscular, ósea y cartilaginosa. El sarro dental se acumula, se forma el cálculo y se produce una enfermedad periodontal, y muchos propietarios notan la halitosis resultante (Hoskins & Fortney, 2004). Además, los cambios relacionados con la edad pueden deteriorar la

actividad fisiológica normal como la reducción de la funcionalidad hepática, renal y el deterioro de los procesos metabólicos y excretar drogas (Goldston & Hoskins, 1997).

Los cambios fisiológicos hepatobiliares incluyen reducción de hepatocitos, aumento de la fibrosis hepática y disminución de la capacidad de desintoxicación, el envejecimiento produce una disminución de la tasa metabólica basal (Metzger, 2005). Mientras que los efectos del envejecimiento renales incluyen disminución del peso del riñón, disminución de la tasa de filtración glomerular y atrofia tubular renal (Lees, 2004). Los efectos inmunológicos incluyen una disminución de la función fagocítica y la quimiotaxis de los neutrófilos, lo que resulta en una disminución de la competencia inmunitaria a pesar de la cantidad normal de linfocitos. Además, el envejecimiento también se asocia con una mayor incidencia de enfermedades mediadas por el sistema inmune, como la anemia hemolítica y la trombocitopenia (Metzger, 2005). A pesar de estos cambios el envejecimiento no se considera una enfermedad (Davies, 2007).

Con el envejecimiento, se producen cambios fisiológicos en la estructura cardíaca secundarios al depósito de tejido adiposo, la calcificación en las valvas de las válvulas y cambios en la estructura del corazón, incluida la remodelación auricular. Dichos cambios pueden hacer que el miocardio sea más susceptible al estrés, lo que conduce a una mayor prevalencia de enfermedades cardiovasculares en la población que envejece (Murphy et al., 2022).

Finalmente, en la figura 2 se muestra que el daño progresivo del genoma y la disfunción del sistema inmunitario, dan como resultado la acumulación de células dañadas seguida de inflamación crónica, lo que conduce a un mayor riesgo de infecciones, neoplasias y otras enfermedades con signos clínicos universalmente aceptados del envejecimiento, es decir, la disminución progresiva de la actividad física y la integridad musculoesquelética, la disfunción cognitiva relacionados con la edad (Fleishman et al., 2021).

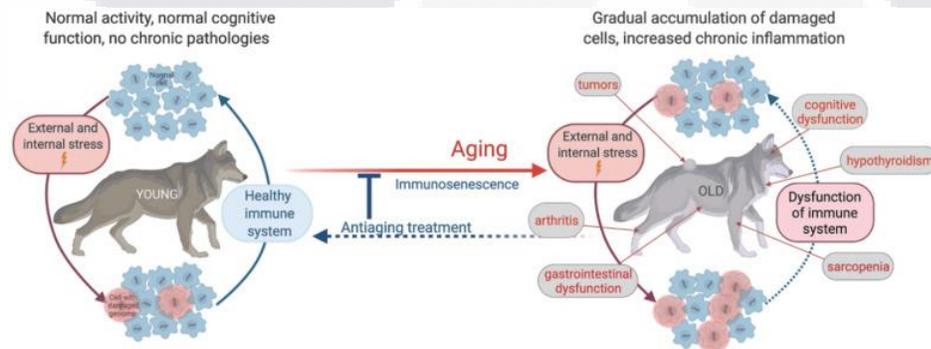


Figura 2. Ilustración esquemática de las alteraciones fisiológicas relacionadas con la edad y sus mecanismos celulares subyacentes. Fuente: (Fleishman et al., 2021).

2.2.1.2. Efectos en el comportamiento

El avance de la profilaxis veterinaria, las intervenciones y la nutrición ha ayudado a aumentar la esperanza de vida de los perros domésticos, lo que, en paralelo con el hombre, ha aumentado la carga de enfermedades relacionadas con la edad (Youssef et al., 2016). La función conductual también cambia significativamente con la edad. Cuando los cambios de comportamiento en los perros mayores se atribuyen al envejecimiento normal, los veterinarios y los propietarios tienden a no realizar más evaluaciones o intervenciones (McKenzie et al., 2022). Cuando algunos de estos cambios pueden relacionarse con la disfunción cognitiva canina (CCD por sus siglas en inglés) un síndrome progresivo reconocido en perros maduros a ancianos con una variedad de cambios neuropatológicos similares a la Enfermedad de Alzheimer (EA) en humanos, para los cuales se cree que es un buen modelo natural (Habiba et al., 2021), por tanto este padecimiento debe ser evaluado en el perro envejecido.

Se ha demostrado que las alteraciones físicas como la discapacidad visual, la alteración del olfato, el temblor, el balanceo o la caída y la ptosis de la cabeza se relacionan con la CCD. Además, estos signos clínicos posiblemente sean evidentes incluso en las etapas preclínicas o tempranas de CCD, y pueden ser útiles para la detección temprana del síndrome (Ozawa et al., 2019). Además, se ha observado que los perros con CCD muestran alteraciones del comportamiento tales como desorientación, interacciones alteradas con los propietarios, otras mascotas y el medio ambiente, alteración del ciclo sueño-vigilia, ensuciar la casa y cambios en la actividad (Landsberg et al., 2012). Los signos de confusión y ansiedad pueden usarse como marcador clínico de CCD, es necesario prestar especial atención a la ansiedad debido a que puede ser estresante tanto para el perro como para el propietario (Fast et al., 2013). Por lo general, se subdiagnóstica porque los cambios de comportamiento a menudo se atribuyen al proceso natural del envejecimiento (Vikartovska et al., 2021) tal como se mencionó previamente.

La fisiopatología de CCD es multifactorial e involucra daño vascular cerebral, depósito de proteína beta-amiloide tóxica en el cerebro, daño cerebral oxidativo, disfunción mitocondrial neuronal, daño neuronal excitotóxico e inflamación (Dewey et al., 2019). Aunque los dueños de perros tienden a considerar algunos cambios fisiológicos y de comportamiento en los perros viejos como parte del proceso normal de envejecimiento, es importante diferenciar entre el envejecimiento normal y el envejecimiento patológico, ya que los cambios de comportamiento pueden ser el primer indicativo de la disminución de

la salud y el bienestar de los perros viejos (Chapagain et al., 2018). Generalmente se reconoce que los perros con CCD muestran deterioro cognitivo a los 8 años o más, sin embargo, los procesos que conducen a este estado clínico pueden comenzar más temprano durante la vida del perro. Por lo tanto, se deben considerar medidas preventivas contra el desarrollo de CCD cuando los perros son de mediana edad (Dewey et al., 2019).

El diagnóstico presuntivo se realiza a través de un examen físico, la exclusión de condiciones sistémicas/metabólicas y la finalización de cuestionarios de detección por parte de los propietarios (Fefer et al., 2022). Uno de tantos cuestionarios utilizados para este fin es el de la escala de calificación de la disfunción cognitiva canina (CCDR) de (Salvin et al., 2011) que es una herramienta valiosa para identificar este padecimiento y fu usado en este estudio. Sin embargo existen una variedad de cuestionarios que pueden distinguir la aparición de cambios conductuales y cognitivos, así como la gravedad y progresión del deterioro cognitivo en perros senior (Madari et al., 2015). Sin embargo, las herramientas de diagnóstico clave para las enfermedades neurodegenerativas en perros se basan en la detección de biomarcadores tanto en la sangre como en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (González-Martínez et al., 2011; Pugliese et al., 2005).

Los perros con CCD parecen tener buenas posibilidades de vivir una vida completa si cuentan con el apoyo del veterinario y del propietario (Fast et al., 2013). Actualmente existen medicamentos, dietas y suplementos disponibles que podrían retardar la progresión del CCD por varios mecanismos, incluida la reducción del estrés oxidativo y la inflamación o la mejora de la función mitocondrial y neuronal (Landsberg et al., 2012). Hasta el momento, el tratamiento recomendado radica únicamente en suplementos nutricionales antioxidantes como denamarina, silibina, vitamina E, cholodina y ácidos grasos omega-3 que se pueden agregar a cualquier dieta (Vikartovska et al., 2021). Los veterinarios e, idealmente, incluso los propietarios deben estar informados de lo que constituye una disminución normal de varias funciones cognitivas para saber cómo vivir con perros que envejecen (Chapagain et al., 2018).

2.2.1.3. Importancia clínica.

El envejecimiento biológico es el factor de riesgo más importante para la enfermedad, la discapacidad y la muerte en perros geriátricos. Los efectos del envejecimiento en los perros de compañía también imponen cargas financieras y psicológicas a sus cuidadores humanos. Los procesos fisiológicos subyacentes del envejecimiento en perros pueden

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

estar ocultos, o los signos tempranos pueden ignorarse debido a la idea errónea de que el envejecimiento biológico es natural y, por lo tanto, inevitable (McKenzie et al., 2022). Por ello, los efectos fisiológicos del envejecimiento son importantes desde el punto de vista médico (Lees, 2004).

El envejecimiento saludable puede reflejarse como un retraso en la aparición de enfermedades crónicas o relacionadas con la edad, una reducción de las morbilidades, un aumento de la longevidad o cualquier combinación de este tipo (Frye et al., 2022). La detección temprana de problemas y los chequeos rutinarios para descartar la presencia de enfermedades subclínicas o reducciones en la funcionalidad de los órganos son objetivos clínicos importantes en el manejo de los animales de edad avanzada. Muchos de los pacientes de avanzada edad tienen enfermedades concomitantes y por ello es importante realizar un examen clínico completo. Los análisis de sangre deberían formar parte de un programa de chequeo exhaustivo (Davies, 2007). El monitoreo rutinario de los datos clínico-patológicos es clave en el manejo de pacientes mayores, puesto que las pruebas de sangre permiten al veterinario monitorear las tendencias en los parámetros de laboratorio que pueden ser los primeros indicadores de enfermedad (Metzger, 2005). Este monitoreo en el perro geriátrico ayuda a determinar si la función de un órgano está afectada o no (Davies, 2007).

La consulta del paciente geriátrico debería ser un acto de medicina preventiva para mantener un correcto estado de salud, prolongar la vida mediante el diagnóstico precoz y tratamiento preventivo de enfermedades; además de mejorar las condiciones de higiene, ambiente y nutrición (Hoskins, 1988). El diagnóstico completo es crucial, debido a que las mascotas de edad avanzada con frecuencia tienen anomalías en múltiples sistemas corporales y con frecuencia reciben medicamentos a largo plazo para enfermedades crónicas o afecciones relacionadas con el envejecimiento (Metzger, 2005). Este último afecta la absorción, distribución, biotransformación y eliminación de la mayoría de los medicamentos; como consecuencia, existen preocupaciones farmacológicas especiales en los pacientes de edad avanzada (Plumb, 2011). Por ello las medicaciones deben ser prescritas a dosis diferentes a las de un adulto joven (Davies, 2007). Además, el análisis sanguíneo de rutina aumenta la seguridad de la administración del fármaco, al identificar afecciones subyacentes de la enfermedad que pueden impedir el uso de ciertos agentes farmacéuticos (Metzger, 2005).

Como veterinarios y defensores del bienestar animal, nuestro trabajo, muchas veces, es hacer ver al propietario de un paciente geriátrico que aquello que afecta o afectará a su mascota tiene una solución o un tratamiento paliativo para que la calidad de vida del paciente y la relación entre ambos sea óptima (Cervantes, 2012). Ahora bien, tanto el entorno como la genética pueden influir en el envejecimiento, por tanto, identificar y mejorar las variables ambientales que podemos controlar son un componente clave para optimizar el envejecimiento. Además, el diagnóstico y tratamiento de las comorbilidades relacionadas con la edad, comunes en las poblaciones de mayor edad, permiten mejorar la calidad de vida (Frye et al., 2022). Muchas enfermedades que aparecen en perros de edad avanzada son crónicas e insidiosas, muchas veces antes de que el propietario note algún signo. Las enfermedades subclínicas pueden causar grandes dificultades a la hora de llevar un caso. Por lo tanto, los objetivos en el manejo de un animal geriátrico son:

1. Prevenir o retrasar la enfermedad
2. Identificar y aminorar problemas lo antes posible
3. Mantener el peso y la condición corporal
4. Mantener la calidad de vida (Davies, 2007)

Las opciones de estilo de vida saludable, incluida la buena nutrición y el ejercicio específico, juegan un papel clave en la reducción de algunas morbilidades, además de optimizar el envejecimiento (Frye et al., 2022). La capacidad de detectar, cuantificar y mitigar los procesos nocivos del envejecimiento canino mejoraría en gran medida la medicina preventiva veterinaria y el bienestar animal (McKenzie et al., 2022).

2.3. HISTORIA CLÍNICA Y EXAMEN FÍSICO.

Un componente crítico de la medicina geriátrica es un programa de atención médica para senior/geriátricas, este debe componerse de: 1) un programa de salud preventiva, 2) una evaluación integral de la salud del paciente que incluye el historial específico de la edad, examen físico completo relacionado con la edad, evaluación de laboratorio y pruebas diagnósticas adicionales, 3) además de un período de revisión formal en el que todos los hallazgos se comunican al propietario y 4) formular planes de acción específicos a corto y largo plazo y programar un seguimiento (Fortney, 2012).

Durante la práctica clínica, las dos fuentes de información con las que se cuenta son la historia clínica y el examen físico (Aguilar, 2005). La historia clínica es uno de los elementos más importantes de la relación entre médico y paciente. En la historia clínica

se registran las acciones terapéuticas y de manejo médico de los pacientes. Además es uno de los elementos probatorios de la diligencia, desde su elaboración formal hasta su trasfondo científico (Guzmán & Arias, 2012).

Componentes de la historia clínica

- Reseña: Datos personales del paciente (especie, raza, sexo, edad, capa y señales, tamaño, peso, utilización y nombre). Además, aquí se incluyen datos administrativos como el número de historia clínica, y los datos de los propietarios, como nombre y apellido, dirección, teléfono, número de documento.
- Anamnesis: Son los datos que el profesional obtiene del personal cercano o del responsable del paciente y del medio en el que se desarrolla, mediante un interrogatorio antes de examinar al paciente. La anamnesis alerta al veterinario sobre la presencia de problemas potenciales y aumenta su agudeza durante el examen físico (Sánchez Klinge & Venegas Cortés, 2009).
- Examen físico general: Es necesario utilizar métodos propedéuticos directos (inspección, palpación, percusión y auscultación) e indirectos para los que se requiere un instrumento de apoyo, como el estetoscopio (Aguilar, 2005).

La elaboración de una buena historia clínica es indispensable para los médicos de cualquier nivel jerárquico (Guzmán & Arias, 2012). La consulta debe comenzar con una discusión general sobre cualquier cambio en el comportamiento que se haya desarrollado. Esto ayudará a detectar síntomas como polidipsia, poliuria, polifagia, cambios en el apetito, intolerancias al ejercicio y dificultad con las actividades cotidianas (Thornley, 2015). Además de un examen físico estándar, los exámenes adicionales deben incluir una evaluación del peso y una palpación suave de cada articulación esquelética en busca de indicaciones de osteoartritis, exámenes rectales digitales de la próstata y evaluar la presencia de masas. Se debe tomar tiempo adicional para un examen dental/oral extenso, así como una palpación de las glándulas mamarias para detectar masas cutáneas y subcutáneas. Cada tumor identificado debe medirse con precisión y mapearse en el registro médico. A menos que esté seguro de que es benigno, lo apropiado es una aspiración con aguja fina y una citología. Algunos médicos creen que es prudente realizar una prueba de lágrimas de Schirmer en sus perros mayores (Fortney, 2012). Asimismo, se debe incluir el examen ocular para identificar la formación de cataratas o el desprendimiento de retina, y pruebas simples para observar la respuesta del paciente al sonido para identificar cualquier deficiencia auditiva. También se debe evaluar la postura y

la marcha para resaltar cualquier cambio artrítico o ataxia, además de medir la presión arterial, ya que la hipertensión puede contribuir al daño tisular de los ojos, los riñones, el corazón, el cerebro y el sistema nervioso central (Pittari et al., 2009).

Se debe incluir la auscultación del corazón y los pulmones, la evaluación de los pulsos yugulares y periféricos, y la evaluación del color de la membrana mucosa y la piel; es importante preguntar a los propietarios sobre cualquier cambio en la tolerancia al ejercicio o el desarrollo de tos o disnea (Bellows et al., 2015).

La frecuencia cardíaca (FC) es una de las pocas variables objetivas que se pueden determinar a partir del examen físico. Comprender lo que representa una adecuada FC en un perro durante el entorno clínico, puede guiar la evaluación clínica de un paciente por parte de un veterinario (Hezzell et al., 2013). Por su parte la frecuencia respiratoria (FR) tiene el potencial de ser un indicador más sensible, aunque inespecífico, de algunas enfermedades como la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) en desarrollo o recurrente, que las radiografías, la tos, otros signos clínicos más evidentes o incluso los biomarcadores bioquímicos. El monitoreo continuo y frecuente de esta variable clínica podría permitir una intervención o modulación terapéutica más oportuna en animales con antecedentes conocidos de insuficiencia cardíaca congestiva o enfermedad cardíaca subclínica grave (por ejemplo, aquellos con dilatación marcada de la aurícula izquierda) (Rishniw et al., 2012).

Por otro lado, tanto en medicina humana como veterinaria, medir la temperatura corporal sigue siendo una parte importante de cualquier examen clínico completo, la temperatura corporal anormal puede indicar una variedad de condiciones críticas (E. J. Hall & Carter, 2017). Debido a ello, es un componente importante en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades en los perros. La temperatura rectal sigue siendo el estándar para obtener la temperatura dentro del entorno clínico (Kahng & Brundage, 2020).

Por lo tanto, los componentes del examen físico general son:

- ✓ Inspección general (estado nutricional, piel, sensorio, facies, actitud, deformaciones evidentes y hallazgos notables)
- ✓ Exploración de mucosas aparentes (color, humedad)
- ✓ Tiempo de llenado capilar
- ✓ Exploración de linfonódulos superficiales
- ✓ Pulso y frecuencia cardíaca
- ✓ Tipo y frecuencia respiratoria

- ✓ Estado de hidratación
- ✓ Temperatura (Sánchez Klinge & Venegas Cortés, 2009).

2.4. HEMATOLOGÍA.

Las pruebas de rutina clínico patológicas son un componente crítico en el manejo de pacientes senior y geriátricos debido a que las pruebas de sangre permiten detectar anomalías subclínicas en el momento en que la intervención preventiva y terapéutica puede tener el mayor beneficio (Epstein et al., 2005). Las ventajas de las pruebas iniciales en pacientes mayores incluyen: 1) ayudar a establecer un diagnóstico en un paciente con una enfermedad conocida, 2) evaluar y controlar las posibles reacciones adversas a los medicamentos, 3) proporcionar una evaluación de los riesgos anestésicos del paciente, 4) descubrir enfermedades subclínicas/indetectables en pacientes aparentemente sanos y 5) establecer una línea de base de laboratorio "normal" para una comparación directa en una fecha posterior cuando el paciente tenga una enfermedad evidente (Fortney, 2012).

Entonces la hematología completa es una herramienta crucial de diagnóstico y detección en la práctica médica (Lawrence et al., 2013). El propósito de llevar a cabo un chequeo hematológico es identificar parámetros anormales como el hematocrito, hemoglobina, aumento o disminución en los recuentos totales de células rojas o blancas, alteraciones en la morfología de las células rojas o blancas, un recuento anormal de plaquetas que pueda indicar la presencia de algunas afecciones como: anemia, deshidratación, desordenes mieloproliferativos, inmunosupresión e infecciones (Davies, 2007). Por lo tanto, los cambios cualitativos, cuantitativos y morfológicos de todas las células sanguíneas, así como, el estado de la coagulación proporcionan información sobre el estado fisiológico de los glóbulos rojos y el leucograma (Beust & McInnes, 2019).

2.4.1. Serie roja (GR, HGB, HCT, VCM, MCH, MCHC y RDW).

Los *glóbulos rojos (GR)* o eritrocitos son las células sanguíneas más abundantes en el organismo y suministran oxígeno a los tejidos corporales. El recuento de estas células vitales suele ser el primer paso que se realiza para analizar el estado patológico de un paciente (Kulasekaran et al., 2015; Valenciano et al., 2014). Estos tienen un diámetro de 6-7 μ m y presentan un área pálida central que representa 1/3 de su diámetro. Tiene una vida media de 120 días (Morales, 2009). Además son anucleados y tienen la forma de discos bicóncavos con palidez central llamados discocitos (J.W. Harvey, 2008).

Los GR se desarrollan a partir de células primitivas (células madre pluripotentes) en la médula ósea, estas células se diferencian en proeritroblastos que experimentan división celular y desarrollo continuo (incluida la síntesis de hemoglobina), mismas que no se liberan en la circulación, excepto en estados de enfermedad (por ejemplo, leucemia). Los proeritroblastos se diferencian en normoblastos, seguidos por reticulocitos y luego eritrocitos maduros. Los normoblastos y los reticulocitos se pueden identificar en la sangre periférica normal, su presencia es variable dependiendo de la especie (Duncan & Hartley, 2000b). En la figura 3 se muestra un modelo simplificado de la hematopoyesis.

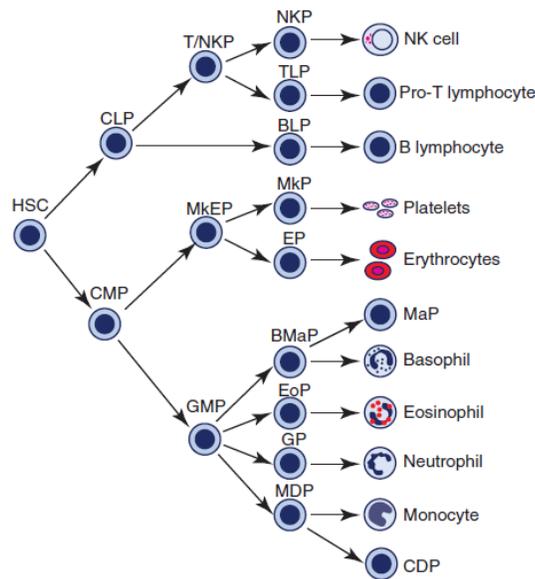


Figura 3. Modelo de trabajo simplificado de la hematopoyesis.

Modelo de trabajo simplificado de la hematopoyesis. HSC, célula madre hematopoyética; CLP, progenitor linfocítico común; CMP, progenitor mieloide común; T/NKP, progenitor de células asesinas naturales de linfocitos T; MkEP, progenitor megacariocito-eritroide; GMP, progenitor de granulocitos-monocitos; NKP, progenitor de células asesinas naturales; TLP, progenitor de linfocitos T; BLP, progenitor de linfocitos B; MkP, progenitor de megacariocitos; EP, progenitor eritroide; BMaP, progenitor de mastocitos y basófilos; EoP, progenitor de eosinófilos, GP, progenitor de granulocitos; MDP, progenitor de células dendríticas de monocitos; NK, asesino natural; MaP, progenitor de mastocitos; CDP, progenitor dendrítico común. Fuente: (John W. Harvey, 2012)

El componente principal de los glóbulos rojos es la *hemoglobina (HGB)*, tiene la capacidad de unir oxígeno y luego liberar dióxido de carbono (Atyabi et al., 2012). La hemoglobina es una proteína que consta de cuatro cadenas polipeptídicas de globina, cada una de las cuales contiene un grupo prostético hemo dentro de un bolsillo hidrofóbico. El grupo hemo está compuesto por un tetrapirrol con una molécula central de hierro que debe mantenerse en el estado ferroso (+2) para unirse de forma reversible al oxígeno (J.W. Harvey, 2008).

El *hematocrito (HCT)* es la porción de volumen total de la sangre ocupada por la masa de eritrocitos; representa, el porcentaje de la masa de eritrocitos en la sangre total y su cifra depende del tamaño del glóbulo rojo, por lo que no siempre refleja el número de hematíes, aunque sí expresa su concentración (Carmona-Fonseca, 2003; J. Greer, 2014). Los índices eritrocitarios se componen de: 1) El *volumen corpuscular medio de los hematíes (VCM)* se determina a partir del hematocrito por 10 entre el número total de eritrocitos, en el perro su valor normal va de 60 a 75 fL. 2) El *contenido medio de hemoglobina de los eritrocitos (MCH o HCM)* se obtiene a partir de la hemoglobina por 10 entre el número total de eritrocitos y su valor normal en perros es de 32 a 38 %. 3) La *concentración media de hemoglobina en los eritrocitos (MCHC o CMHC)* se obtiene a partir de la hemoglobina por 100 entre el hematocrito, su valor normal en el perro es de 19.5 a 24.5 g/dl (Morales, 2009). Uno de los parámetros nuevos que aportan los analizadores es la determinación del ancho de la *distribución de los eritrocitos (RDW)*, parámetro que mide la anisocitosis eritrocitaria (Arauz et al., 2020).

2.4.2. Serie blanca (GB, LYM, MID, GRAN).

Los *glóbulos blancos (GB)* o leucocitos son células verdaderas, es decir, tienen citoplasma y núcleo (Arauz et al., 2020). Por tanto, los GB son un grupo heterogéneo de células nucleadas que se pueden encontrar en circulación durante al menos un período de su vida. Desempeñan un papel muy importante en la fagocitosis y la inmunidad y, por lo tanto, en la defensa contra la infección. Se clasifican en granulocitos, linfocitos y monocitos. Los granulocitos (GRAN) deben su nombre a la presencia de granulación citoplasmática distinta. Se reconocen tres variedades: neutrófilos (o granulocitos polimorfonucleares), eosinófilos y basófilos (Blumenreich, 1990).

Los *linfocitos (LYM)* pueden verse de diferentes tamaños: pequeños, medianos y grandes. Los pequeños predominan, tiene un núcleo excéntrico, redondo u oval, en ocasiones ligeramente indentado, fuertemente teñido con cúmulos de cromatina (hipercromático). El citoplasma es escaso, de color azul claro (basófilo), en ocasiones se pueden observar gránulos azurófilos de color azul oscuro o rojo. Los linfocitos medianos son una fase intermedia entre los pequeños y los grandes. Los linfocitos grandes presentan cromatina nuclear menos densa, el citoplasma es más abundante y varía desde una basofilia ligera a moderada, algunos tienen unos cuantos gránulos eosinofílicos en el área citoplasmática perinuclear (Morales, 2009). Los linfocitos son células inmunitarias fundamentales en la

inmunidad celular y humoral. Pertenecen a los sistemas B (médula ósea) o T (timo). Ambas células son morfológicamente indistinguibles. El sistema B es responsable de la síntesis de anticuerpos. El sistema T constituye el sistema inmunitario celular y regula todo el aparato inmunitario (Blumenreich, 1990).

Los *monocitos (MID)* son más grandes de 15-20 μm y similares a los eosinófilos. El núcleo varía enormemente y puede adoptar cualquier forma desde redondo (monocitos menos maduros) hasta las formas de los monocitos maduros, indentado, enroscado, forma de riñón. En otras ocasiones puede presentar formas nucleares ameboides y multilobuladas. El citoplasma es azul grisáceo y es característica la presencia de vacuolas (Morales, 2009). Los monocitos y macrófagos fagocitan bacterias y material particulado, juegan un papel en la reacción inflamatoria y son importantes en el aparato inmunitario donde procesan material antigénico y se "comunican" con los linfocitos T a través de un proceso de interacción célula-célula. Los monocitos son capaces de secretar interleucina, una sustancia que potencia los linfocitos B y T. Participan en la fibrinólisis secretando activadores del plasminógeno (Blumenreich, 1990).

Los *neutrófilos segmentados* son los más comunes. Tiene un diámetro de 10-15 μm y el núcleo es alargado e irregularmente lobulado, presentando de 3 a 5 lóbulos. El citoplasma es azul claro o rosa con una granulación que oscila de inapreciables a ligeramente eosinofílica. Los *neutrófilos en banda* en un canino sano se presentan en escaso número. El núcleo tiene forma curvada con los bordes paralelos, pero pueden tener una estrangulación ligera. La condensación de la cromatina es evidente y el citoplasma es igual al de un neutrófilo maduro (Morales, 2009). La función principal de los granulocitos neutrófilos es la fagocitosis de bacterias. Este es un proceso complejo de varias etapas que incluye la absorción del organismo, la incorporación al citoplasma y la fusión con un lisosoma donde se liberan enzimas que destruirán la bacteria mientras se genera una explosión de energía (Blumenreich, 1990).

Los *eosinófilos* tienen un tamaño ligeramente superior al de los neutrófilos y se encuentran en escaso número. El núcleo presenta menos lobulaciones, generalmente solo dos lóbulos. El citoplasma se tiñe de color azul pálido y contiene gránulos de color rojo-anaranjado. Los gránulos son redondos y muy variables de tamaño y número (Morales, 2009). En adición a su participación en los procesos inflamatorios, los eosinófilos cumplen un rol importante en los procesos homeostáticos e inmunes. Participan en la inmunidad mediada por células a través del reconocimiento y

presentación de antígenos microbianos, virales y parasitarios. El rol inmunológico de los eosinófilos se relaciona con su capacidad de responder a partículas antigénicas. Se sabe que su número aumenta en enfermedades parasitarias y alérgicas (Arauz et al., 2020).

Los *basófilos* son raros de encontrar en perros sanos. Son del mismo tamaño o mayores que los neutrófilos. El núcleo tiene menos lobulaciones que un neutrófilo y suele adoptar una forma de cinta trenzada. El citoplasma es azul-grisáceo. Los gránulos varían de tamaño, número e intensidad de coloración y se ubica tanto en el núcleo como en el citoplasma; suelen ser escasos o ausentes, de color azul pardo oscuro (Morales, 2009). En su membrana plasmática tienen receptores específicos para la inmunoglobulina E (IgE). Esta se encuentra incrementada en los casos de asma, dermatitis alérgica, entre otros. Los basófilos liberan el contenido de sus gránulos hacia el medio intercelular y juegan un papel importante en la inmunidad mediada por células (Arauz et al., 2020).

2.4.3. Plaquetas (PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR y PLCC).

Las *plaquetas (PLQ)* son células pequeñas, anucleadas, con citoplasma gris pálido a azul claro descolorido que contiene normalmente una agrupación central de gránulos pequeños rosados o color púrpura. Su tamaño es de 1/ a 2/3 del tamaño de los eritrocitos. La vida media es de una semana (Morales, 2009). La principal función bien conocida de las plaquetas es la hemostasia o la prevención del sangrado durante las primeras etapas de la formación de coágulos (Golebiewska & Poole, 2015). Además, son activadas por citocinas y desempeñan un papel fundamental en la inflamación al sintetizar citocinas proinflamatorias que conducen a la migración de leucocitos y se unen a las células endoteliales (Şahin et al., 2017).

Los analizadores de hematología modernos en el uso de diagnóstico de rutina, que miden los índices de plaquetas utilizan técnicas de conteo de impedancia o de conteo de dispersión de luz óptica (Lippi et al., 2015). Los índices plaquetarios son biomarcadores de la activación plaquetaria. Permiten investigaciones clínicas extensas que se centran en los valores de diagnóstico y pronóstico en una variedad de entornos sin generar costos adicionales. Entre estos índices de plaquetas, el *volumen plaquetario medio (MPV)*, el *ancho de distribución de las plaquetas (PDW)*, el *plaquetocrito (PCT)*, la *proporción de células grandes (P-LCR)* (Budak et al., 2016) y el *recuento de células grandes de plaquetas (PLCC)* (Shankaralingappa et al., 2022) son un grupo de parámetros de plaquetas determinados en conjunto en perfiles automáticos de conteo sanguíneo

completo; están relacionados con la morfología y la cinética de proliferación de las plaquetas (Budak et al., 2016).

El aumento de MPV indica un aumento del diámetro de las plaquetas, que se puede utilizar como marcador de la tasa de producción y la activación de las plaquetas (Budak et al., 2016). El PDW es un indicador de la variabilidad del volumen en el tamaño de las plaquetas y aumenta en presencia de anisocitosis plaquetaria (Osselaer et al., 1997). El PCT es el volumen que ocupan las plaquetas en la sangre en porcentaje y se calcula según la fórmula $PCT = \text{recuento de plaquetas por MPV} / 10,000$ (Chandrashekar, 2013). El P-LCR es un indicador de las plaquetas más grandes en circulación, que se presenta como porcentaje. También se ha utilizado para controlar la actividad plaquetaria (Hong et al., 2014). El recuento de plaquetas, PCT, MPV, PDW, P-LCR y PLCC pueden usarse como marcador inflamatorio en cualquier condición asociada con inflamación sistémica (Yolcu et al., 2014).

2.5. MORFOLOGÍA DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS.

El estudio morfológico de la sangre se inició en el siglo XIX gracias al interés y a la inquietud que se originaron después de las observaciones de este líquido a través del microscopio en los siglos precedentes (Papp, 1973). En la segunda mitad del siglo XIX se explora incansablemente a través del microscopio. Un líquido tan fácil de obtener se convierte en el tejido representante del todo corporal, donde indagar pistas que lleven al conocimiento del origen de una enfermedad (Foucauld, 1966).

La sangre, sigue siendo el tejido más accesible y más fácilmente contemplable; su observación directa por el microscopio seguirá siendo tan común y elemental y al mismo tiempo valiosa. La morfología de las células hemáticas no desaparecerá, pero seguirá requiriendo de expertos para reconocerla (Ávila, 2003). El microscopio de luz ha sido el método más frecuente para la evaluación de la morfología de los glóbulos rojos porque es una herramienta importante en la detección de enfermedades en pacientes geriátricos, así como una medida de control de calidad para equipos de hematología automatizados y como una evaluación rápida en pacientes de urgencia clínica (Allison & Meinkoth, 2007; Lanaux et al., 2011; Metzger & Rebar, 2012).

La evaluación microscópica de frotis de sangre es una parte esencial del hemograma completo debido a que los analizadores más sofisticados no detectan muchas anomalías en la sangre. Además, la evaluación morfológica de un frotis de sangre proporciona

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

información sobre la etiología de la anemia, la presencia de procesos metabólicos subyacentes, la posibilidad de disfunción orgánica específica y la identificación de agentes infecciosos (DeNicola, 2008; Meyer & Harvey, 2000; Walker, 2008).

También, ayuda a detectar una tendencia anormal de los componentes hematológicos, antes de que se afecten los valores numéricos que constituyen el resto del análisis (Duncan & Hartley, 2000a). La detección temprana de una enfermedad puede ayudar a mejorar la calidad de vida, especialmente para los perros de edad avanzada. Por lo tanto, la evaluación del frotis sanguíneo es importante en pacientes geriátricos ya que los cambios en los eritrocitos, leucocitos y trombocitos son comunes en este tipo de pacientes y pueden dar alguna pista sobre las enfermedades subclínicas (Metzger & Rebar, 2012).

Por otro lado, algunas anomalías solo pueden detectarse con un frotis sanguíneo, esto incluye: los neutrófilos en banda, leucocitos atípicos, cambios en la morfología de los glóbulos rojos, en particular estos últimos pueden ser artificiales y deben confirmarse en frotis inmediatamente después de la toma de muestra (Duncan & Hartley, 2000a).

Mientras tanto, el avance de la tecnología nos permite explorar otras herramientas que pueden ser alternativas para evaluar la morfología de los glóbulos rojos en un campo de investigación científica, ya que la microscopía electrónica de barrido (MEB) es ampliamente utilizada para evaluar las propiedades morfológicas de los eritrocitos en diferentes condiciones fisiológicas humanas (Loyola-Leyva et al., 2019, 2020, 2022; Maksimov et al., 2016).

La evaluación morfológica de las células sanguíneas a través de MEB se ha aplicado principalmente en medicina humana, en pacientes con enfermedades inflamatorias, cardiovasculares, relacionadas con el envejecimiento y diabetes (Jin et al., 2010; Loyola-Leyva et al., 2018; Pretorius et al., 2015). Algunas de estas enfermedades también pueden presentarse en perros, especialmente en perros de edad avanzada (Gates et al., 2017; Greco, 2018; Kumiega et al., 2020; Mazzatenta et al., 2017). Así, a lo largo de los años el perro ha sido utilizado como modelo experimental en el avance de algunas enfermedades que también se presentan en humanos (Adin & Gilor, 2017; Al-Anesi et al., 2020; Mazzatenta et al., 2017; Topál et al., 2019). Por esta razón, es importante explorar otras herramientas microscópicas en el campo de la investigación veterinaria que puedan ayudar en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades tanto en animales como en humanos.

2.6. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.

A medida que la mascota entra en su vejez, se recomiendan pruebas más frecuentes y exámenes más extensos que para las mascotas más jóvenes (Epstein et al., 2005). Las analíticas de bioquímica sanguínea son una parte importante de un programa de chequeo en animales mayores ya que son particularmente útiles en la detección de alteraciones orgánicas subclínicas o insuficiencias funcionales. La mayoría de los test de funcionalidad hepática son normales en pacientes geriátricos lo que probablemente refleja la enorme capacidad de reserva de este órgano (Davies, 2007).

2.6.1. ALT, AST, FA, GGT.

La *alanino aminotransferasa (ALT)* es una enzima citoplasmática que se encuentra principalmente en los hepatocitos. Siempre que haya una lesión de hepatocitos en perros, la ALT se filtrará a la sangre en cantidades mayores. En general, las elevaciones máximas se alcanzan en aproximadamente 48 horas después de la lesión. La vida media circulante de ALT es de aproximadamente 48 a 96 horas en perros, por lo que las elevaciones continuas o crecientes indican una lesión en curso. Se puede esperar que un aumento de 2 veces en ALT causado por un solo episodio de lesión hepática se resuelva en 48 a 72 horas (Rebar & Metzger, 2001). En este sentido, ALT es un indicador de lesión hepatocelular aguda. Es importante señalar que la ALT no es una prueba de función hepática; más bien, se considera mejor como un indicador del número de hepatocitos que sufren lesión o daño al mismo tiempo (Metzger & Rebar, 2012).

La enzima *aspartato aminotransferasa (AST)* es abundante en una variedad de tejidos, incluidos el hígado y el músculo. Por lo tanto, las actividades séricas elevadas de AST solo pueden interpretarse junto con otras enzimas hepáticas más específicas para diagnosticar la enfermedad hepática (Constable et al., 2017).

La *fosfatasa alcalina (FA)* es una enzima unida a la membrana que se encuentra en la superficie de los conductos biliares de los hepatocitos. La producción de FA se induce cada vez que se produce colestasis. Desafortunadamente, en el perro, FA no se encuentra solo en el sistema biliar. Las isoenzimas de FA también se pueden encontrar en los huesos, la placenta, los riñones y el tracto gastrointestinal e incluso hay una isoenzima adicional inducida específicamente por altos niveles circulantes de glucocorticoides (como se ve en la enfermedad de Cushing) y otros estímulos (Mary Anna. Thrall et al., 2012). Las elevaciones de cuatro veces o más en perros se consideran

indicativas de colestasis o elevaciones de la concentración inducida por esteroides (Rebar & Metzger, 2001).

La *Gamma-glutamyl transferasa (GGT)* es una enzima unida a la membrana asociada con el epitelio de los conductos biliares. Como tal, es un segundo indicador primario de colestasis. Se ha sugerido que la GGT puede ser más útil que la FA en perros, ya que los glucocorticoides no la inducen directamente (Willard & Twedt, 2012). Se ven casos caninos en los que la GGT está elevada en mayor proporción que la FA. Dichos pacientes generalmente sufren de obstrucción biliar y colestasis extrahepática (Metzger & Rebar, 2012).

2.6.2. Colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas y relación A/G.

El hígado juega un papel central en el metabolismo de los lípidos; por lo tanto, la enfermedad hepática puede afectar profundamente los niveles de lípidos circulantes. Dado que el hígado es el sitio de la síntesis de *colesterol*, la enfermedad hepática en etapa terminal con una masa hepática funcional profundamente disminuida también puede presentarse con hipocolesterolemia. Este hallazgo es menos frecuente, pero en realidad más específico para la enfermedad hepática que hipercolesterolemia (Metzger & Rebar, 2012).

Los niveles bajos de *glucosa* en sangre en ayunas pueden indicar una masa hepática funcional reducida. El hígado es fundamental para el metabolismo de los carbohidratos y es el sitio principal de almacenamiento de glucógeno. Cuando se deteriora la capacidad del hígado para almacenar glucógeno, puede producirse hipoglucemia. La hipoglucemia ante una enfermedad hepática es un signo de mal pronóstico (Metzger & Rebar, 2012).

La concentración de *proteínas* en el suero están estrechamente controladas para equilibrar sus funciones fisiológicas en las áreas de inmunidad, coagulación, transporte de moléculas pequeñas e inflamación (Tothova et al., 2016). Por lo tanto, el perfil de proteínas séricas es una de las pruebas estándar utilizadas para controlar el estado de salud y de enfermedades, como infecciones y respuestas inflamatorias agudas y crónicas (Asawakarn & Taweethavonsawat, 2021). La cuantificación de la proteína sérica puede ayudar a detectar y monitorear diversas enfermedades y procesos patológicos. Hay métodos químicos y físicos disponibles para medir las proteínas totales en fluidos biológicos (Tothova et al., 2016). En bioquímica clínica, las metodologías químicas se utilizan con mayor frecuencia debido a la posibilidad de adaptar estas técnicas a

analizadores automatizados (Eckersall, 2008). Muchos de los kits de ensayo desarrollados para uso automatizado en analizadores bioquímicos húmedos, así como analizadores de química seca, se basan en el principio de Biuret, debido a que es una técnica muy barata que a su vez contribuye a una amplia aplicación en medicina veterinaria (Tothova et al., 2016).

La *albúmina* es la proteína individual más abundante en el suero y es sintetizada por el hígado. Las *globulinas* también son sintetizadas por el hígado, a excepción de las inmunoglobulinas (Tothova et al., 2016). La albúmina juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis dentro del cuerpo y depende de la membrana celular y del mecanismo de transporte, incluida la difusión, la ósmosis, la filtración y el transporte activo. Las proteínas disueltas, que son las únicas sustancias que no penetran en los poros de la membrana capilar, son las responsables de la presión osmótica de la membrana capilar. Aproximadamente el 75 % de la presión osmótica coloidal total está relacionada con la albúmina (Hankins, 2006). La concentración de albúmina sérica es el resultado neto de procesos fisiológicos como la síntesis y el catabolismo (Prinsen & de Sain-van der Velden, 2004). El método de verde de bromocresol (BCG) y el púrpura de bromocresol son la base para determinar la albúmina sérica (Watanabe et al., 2004). Cuando se determina la albúmina o las globulinas, el otro se puede calcular mediante la sustracción de la concentración total de proteínas (Eckersall, 2008).

Una *relación A/G* disminuida puede ser causada por la sobreproducción de globulinas, la síntesis disminuida de albúmina o debido a la pérdida de albúmina de la circulación. Por otro lado, una relación *A/G* más alta refleja la subproducción de globulinas (Alberghina et al., 2011).

2.6.3. Creatinina, BUN, urea, relación BUN/creatinina.

La enfermedad renal, especialmente la enfermedad renal crónica (ERC), es común en perros mayores (Coyne et al., 2020). Los veterinarios dependen en gran medida de las pruebas de laboratorio de rutina para reconocer las alteraciones en la función renal asociadas con la enfermedad renal aguda y crónica. Condiciones extrarrenales como deshidratación, hipovolemia e hipotensión pueden reducir la tasa de filtración glomerular (TFG); el deterioro de la función renal por estas condiciones aumenta el riesgo de lesión renal (Grauer, 2005). La *creatinina* es un biomarcador comúnmente utilizada como

indicador de la TFG (Coyne et al., 2020). Los riñones tienen muchas funciones metabólicas esenciales (Ottka et al., 2021).

La azotemia se define como un aumento de los niveles circulantes de desechos nitrogenados y se caracteriza por niveles elevados de *nitrógeno ureico en sangre (BUN)* y creatinina. Los valores elevados de BUN y creatinina son típicos en una falla renal crónica. El BUN y la creatinina son indicadores de la TFG, pero no se elevan en la enfermedad renal hasta que más de las tres cuartas partes de las nefronas no funcionan. El BUN puede aumentar después de una dieta rica en proteínas o de una hemorragia en el tracto gastrointestinal (Polzin et al., 2005). También es un indicador de la función hepática. Cuando la proteína entra en el tracto gastrointestinal se convierte en amoníaco, que se difunde fácilmente a través del revestimiento intestinal y entra en la circulación portal. La circulación portal lleva el amoníaco al hígado, donde se convierte en *urea* a través de las enzimas del ciclo de la urea. Cuando la actividad del ciclo de la urea se reduce como resultado de una disminución de la masa hepática funcional o de un cortocircuito portosistémico congénito o adquirido, los niveles de urea circulante pueden disminuir y los niveles de amoníaco pueden aumentar (Metzger & Rebar, 2012).

2.6.4. Calcio, fósforo, hierro.

En el diagnóstico clínico el *calcio* y el *fósforo* son componentes importantes del metabolismo óseo, su concentración en la sangre puede variar con la edad del animal, por ello, requiere intervalos de referencia específicos para la edad. La mayoría del calcio se une a la albúmina (Tomlinson et al., 2013).

El fósforo tiene un papel vital en el cuerpo, su papel en el metabolismo energético a través de adenosín difosfato (ADP) y adenosín trifosfato (ATP) es crucial para la funcionalidad del cuerpo. Un equilibrio adecuado de fósforo es un requisito previo para las funciones celulares esenciales que van desde el metabolismo energético hasta la señalización celular. Por lo tanto, la concentración en sangre y tejidos está regulada en límites relativamente estrictos, principalmente por la hormona paratiroidea (PTH) y la vitamina D3 (Dobenecker et al., 2021). El fósforo también se elimina a través de la filtración glomerular. En general, las elevaciones en los niveles de fósforo se correlacionan con las elevaciones de creatinina. Los niveles de fósforo deben controlarse de cerca durante el tratamiento de la insuficiencia renal crónica porque la hiperfosfatemia crónica puede provocar hiperparatiroidismo renal secundario y mineralización de los tejidos blandos

(Bates, 2008). El fósforo puede disminuir casos de reducción de la ingesta de alimentos. Por otro lado, si bien los valores de calcio y fósforo pueden cambiar en casos de disfunción renal, no debe interpretarse como una observación aislada, sino más bien se deben asociar con las concentraciones elevadas de urea y creatinina o evidencia histológica de patología renal (Tomlinson et al., 2013).

El *hierro* es un nutriente esencial requerido en una amplia variedad de procesos metabólicos. Las proteínas que contienen hierro son críticas para el transporte y almacenamiento de oxígeno, la respiración, la síntesis de ADN, la función del ciclo del ácido cítrico y varias reacciones enzimáticas (Ryan & Aust, 1992).

La concentración de hierro sérico generalmente aumenta en animales con anemia hemolítica, diseritropoyesis, anemia hipoplásica o aplásica, sobrecarga de hierro, toxicidad aguda por hierro, hepatopatía crónica (perros) (Haldane & Davis, 2009; J.W. Harvey, 2008). Los valores de hierro sérico pueden aumentar falsamente si los tubos o pipetas de laboratorio que se utilizan para manipular sangre o suero están contaminados con hierro (John W. Harvey, 2012). La concentración de hierro sérico es generalmente baja en la deficiencia de hierro e inflamación (Da Silva et al., 2009; J. W. Harvey, 2008). También es baja en aproximadamente la mitad de los perros con derivaciones portosistémicas, como podría ocurrir con la administración de eritropoyetina o después de una hemorragia aguda (J. W. Harvey, 2008; Saverio. Paltrinieri et al., 2010).

CAPÍTULO 3: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.

Si se analizan las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas de perros adultos (1 - 7.9 años), senior (8 – 11.9 años) y geriatras (>12 años), encontraremos cambios fisiológicos asociados al envejecimiento.

3.2. OBJETIVOS.

3.2.1. Objetivo general.

Identificar el efecto fisiológico del envejecimiento sobre las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas de perros adultos (1 - 7.9 años), senior (8 – 11.9 años) y geriatras (>12 años) para obtener intervalos de referencia específicos.

3.2.2. Objetivos específicos.

3.2.2.1. Realizar la exploración física del paciente (temperatura, frecuencia cardíaca, pulso, mucosas, tiempo de llenado capilar, frecuencia respiratoria, condición corporal, peso, hidratación, linfonodos, palpación abdominal, reflejo tusígeno y deglutorio), y un examen físico extenso (articulaciones, próstata, dentadura, glándulas mamarias y piel).

3.2.2.2. Obtener los valores hematológicos de los eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CMHC, leucocitos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, neutrófilos y plaquetas; además de realizar frotis sanguíneos y evaluar la morfología de las células hemáticas mediante microscopía óptica y electrónica de barrido.

3.2.2.3. Obtener los valores bioquímicos de la sangre: ALT, AST, FA, GGT, colesterol, glucosa, proteínas totales, albúmina, globulinas, A/G, creatinina, BUN, urea, BUN/creatinina, hierro, fósforo y calcio.

3.2.2.4. Determinar la relación que existe entre el envejecimiento y las variables hematológicas, morfológicas y bioquímicas.

3.2.2.5. Determinar los intervalos de referencia específicos para perros adultos (1 - 7.9 años), senior (8 – 11.9 años) y geriatras (>12 años).

CAPÍTULO 4: MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN Y ZONA GEOGRÁFICA.

El estudio se realizó en el estado de Aguascalientes que se encuentra ubicado en el centro de México, ilustrado en la figura 4; colinda al norte, noreste y oeste con Zacatecas; al sureste y sur con Jalisco. Esta localizado en las coordenadas, al norte 22°27', al sur 21°38' de latitud norte; al este 101°53', al oeste 102°52' de longitud oeste. El Estado de Aguascalientes representa aproximadamente el 0.3% de la superficie del país.

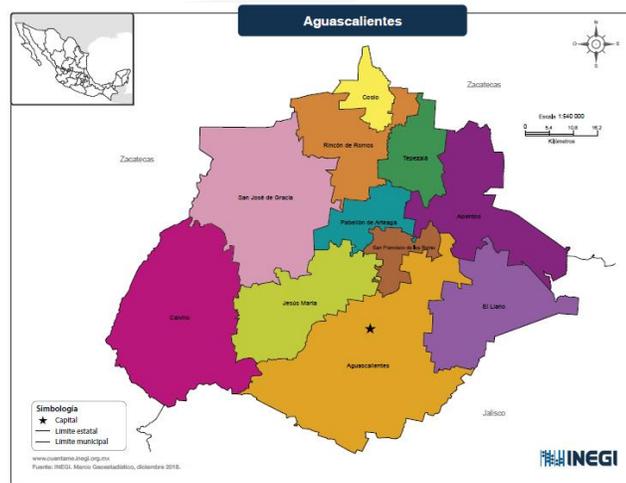


Figura 4. Ubicación geográfica del estudio.

4.2. ENCUESTA: EL ESTADO ACTUAL DE LOS PERROS EN AGUASCALIENTES.

Previo a la selección y obtención de muestras, durante este estudio se diseñó una encuesta dirigida a la población de habitantes del estado de Aguascalientes con la finalidad de obtener información acerca de la situación actual de la población canina del estado. Inicialmente, se obtuvieron algunos datos de cada encuestado como su nombre, edad, número de personas por casa habitación, municipio y fraccionamiento que habita. Además, se identificó a quienes son propietarios de un perro como mascota y quienes no, así como sus razones en ambos casos. Aquellos habitantes que son propietarios de un perro también proporcionaron el número de perros por casa habitación, edad, etapa que prefieren (cachorro, adulto o geriátra), sexo, estado reproductivo, raza, talla, tipo de alimentación, estado de vacunación y desparasitación de su mascota. Asimismo, se logró identificar la importancia de conseguir una vejez saludable para su perro y las acciones que están tomando como propietarios para lograrlo. Cabe mencionar que la encuesta fue

difundida en redes sociales y respondida de manera aleatoria por los habitantes del estado de Aguascalientes preferentemente mayores a 18 años de edad (Anexo 1).

De acuerdo con los resultados que dio a conocer el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) del Censo de Población y Vivienda 2020, del periodo de levantamiento del principal ejercicio censal que se realiza en México cada década, del 2 al 27 de marzo de 2020 la población total en Aguascalientes es de 1,425,607 habitantes (<https://censo2020.mx/>). Dicho esto, se calculó el tamaño de muestra de las encuestas a realizar, sin importar si tenían un perro como mascota o no, asignando un nivel de confianza del 98% y un margen de error del 5%, donde se desconoce la probabilidad del evento de estudio.

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

n = Tamaño de muestra buscado.

N = Tamaño de la población.

Z = Parámetro estadístico que depende el nivel de confianza.

e = Error de estimación máximo aceptado.

p = Probabilidad de que ocurra el evento estudiado.

q = (1 – p) Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado.

4.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN BAJO ESTUDIO.

Después de completar la encuesta, se realizó una agenda con cada uno de los propietarios de mascotas que participaron en la misma y que estaban interesados en que sus perros formaran parte de esta investigación. Este estudio se realizó en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento de Ética para el Uso de Animales en la Docencia e Investigación de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (CEADI-UAA) Código: DIPL-NO-37 (UAA, 2019). Se utilizó un diseño transversal no experimental (Chew, 2019). Se seleccionaron 148 perros sanos desde el punto de vista clínico, de diferente sexo y tamaño corporal, clasificados en grupos de diferentes edades: grupo I (47 perros de 1 - 7.9 años de edad) y grupo II (50 perros 8 – 11.9 años de edad) y grupo III (51 perros >12 años de edad) (Radakovich et al., 2017). Las razas se agruparon según su tamaño corporal: perros de tamaño pequeño (< 9,5 kg), medianos (9,5-22,7 kg) y perros de tamaño grande (> 22,7-54,5 kg) (Willems et al., 2017). Para asegurarnos que los perros

se ordenaran correctamente según su edad y tamaño corporal se utilizó la figura 5 que muestra una tabla de analogía humano/mascota.

Pet age	Feline	Canine (adult size in kg)				Human equivalent age
		0–9.1	9.5–22.7	23.2–54.5	> 54.5	
3 years	28	28	29	31	39	
4 years	32	33	34	38	49	
5 years	36	38	39	45	59	
6 years	40	42	44	52	69	
7 years	44	46	49	59	79	
8 years	48	50	54	66	89	
9 years	52	54	59	73	99	
10 years	56	58	64	80		
11 years	60	62	69	87		
12 years	64	66	74	94		
13 years	68	70	79			
14 years	72	74	84			
15 years	76	78	89			
16 years	80	82	94			
17 years	84	86				
18 years	88	90				
19 years	92	94				
20 years	96					

Adult;
 Senior;
 Geriatric

Figura 5. Cuadro de analogía humano/mascota.

(Modificado de Fortney WD: Implementing a Successful Senior/Geriatric Health Care Program for Veterinarians, Veterinary Technicians, and Office Managers. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2012; 42:823–834. Adaptado con autorización).

4.3.1. Criterios de inclusión y exclusión de la población.

Para esta investigación se incluyeron perros determinados clínicamente sanos mediante la exploración física. Todos los perros ayunaron durante 8 a 12 horas antes de la toma de muestra de sangre y se permitió el consumo de agua a voluntad. Se excluyeron del estudio los perros que no habían ayunado, hembras en gestación, celo o lactancia, los perros que tomaban medicación en el momento de la toma de muestra de sangre o cuando se sospechaba de alguna enfermedad significativa en función de la historia clínica y la observación. Los perros debían estar libres de medicamentos durante al menos 2 meses antes de su inclusión. Se permitió la medicación preventiva (vacunación, desparasitación) hasta 2 semanas antes de la consulta (Friedrichs et al., 2012; Radakovich et al., 2017; Willems et al., 2017).

4.4. HISTORIA CLÍNICA Y EXPLORACIÓN FÍSICA.

Los animales se evaluaron como sanos en base a la historia clínica y el examen físico general. La recolección de la historia clínica y el examen físico fueron realizados en el Laboratorio de Parasitología del Centro de Ciencias agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y en algunas clínicas privadas. Se realizó un cuestionario (Anexo 1) relacionado con el estado de salud, entorno y estilo de vida, actividad física, cambios de comportamiento, nutrición, vacunación, control de parásitos e historial médico (Friedrichs et al., 2012). Además, en el apartado de la evaluación del comportamiento del anexo 1, se midió la escala de la disfunción cognitiva canina (Salvin et al., 2011). El cuestionario se revisó con el propietario y se formularon preguntas adicionales en caso de ser necesario (Willems et al., 2017). Durante este tiempo, se le permitió al perro explorar libremente en la sala.

También en el anexo 2 se registró la fecha de nacimiento, sexo, raza, peso, tamaño corporal, dieta, estado reproductivo, signos vitales de cada perro (Bellows et al., 2015; Fortney, 2012). Además, se determinó una puntuación de la condición corporal (BCS) en función de una escala de 9 puntos (Freeman et al., 2011).

Para realizar el examen físico general se utilizaron las siguientes herramientas: observación, palpación, auscultación y percusión. En la figura 6 se muestra la exploración física del paciente incluyo: temperatura, frecuencia cardíaca, pulso, mucosas, tiempo de llenado capilar, frecuencia respiratoria, condición corporal, peso, hidratación, linfonodos, palpación abdominal, reflejo tusígeno y deglutorio (Bellows et al., 2015). Además, la exploración física en el perro envejecido (senior y geriatra) se complementó con datos adicionales como palpación de cada articulación esquelética, examen dental, palpación de glándulas mamarias y la piel (Willems et al., 2017).

Todos los perros seleccionados para este estudio eran de propiedad privada. Todos los propietarios firmaron un formulario de consentimiento informado (Anexo 1).



Figura 6. Exploración física.

4.5. TECNICAS DE LABORATORIO.

4.5.1. Hematología.

Para realizar la evaluación hematológica se recolecto un total de 500 μ l de sangre completa obtenida por venopunción yugular (figura 7) depositada en tubos con K₂EDTA (K₂EDTA) BD Microtainer®, que contiene la cantidad óptima de EDTA di-potásico aplicado por aspersión para anticoagular el volumen especificado de sangre (BD Franklin Lakes NJ USA).



Figura 7. Obtención de muestra sanguínea

Se obtuvieron los valores hematológicos como se muestra en la figura 4 mediante el equipo Hemalyzer 2000 (HLAB, Laboteka, USA) en el Laboratorio de Patología Diagnóstica del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, previo a procesar la muestra de sangre, el equipo fue calibrado y antes de cada análisis de muestreo se utilizaron los controles comerciales bajo, normal y alto (Licon®, México) como parte del control de calidad. Entonces, una vez que se obtuvo la muestra de sangre, se agita suavemente el tubo de 5 a 10 veces para mezclar bien la muestra, posteriormente se coloca el tubo de muestra debajo de la sonda, asegurándose de que la sonda llegue al fondo del tubo. Finalmente se presiona la tecla ejecutar en la parte frontal del equipo (botón verde) para que absorba la muestra, el indicador de estado enciende una luz naranja, después el equipo emite un sonido para retirar el tubo de la muestra e inicia el análisis de la misma (figura 8).

Al concluir el análisis de la muestra, el equipo muestra los resultados de la prueba y los histogramas en la pantalla: serie roja (glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, VCM, MCH, MCHC, RDW), serie blanca (glóbulos blancos, linfocitos, monocitos y granulocitos relativos y absolutos) y plaquetas (MPV, PDW, PCT, PLCR y PLCC).

Según las indicaciones del proveedor la sangre completa solo se puede almacenar durante 4 horas a temperatura ambiente y recomiendan mantener la muestra de sangre entre 2-8°C para un almacenamiento más prolongado. Preferiblemente la muestra de sangre es analizada inmediatamente después de que se obtuvo.

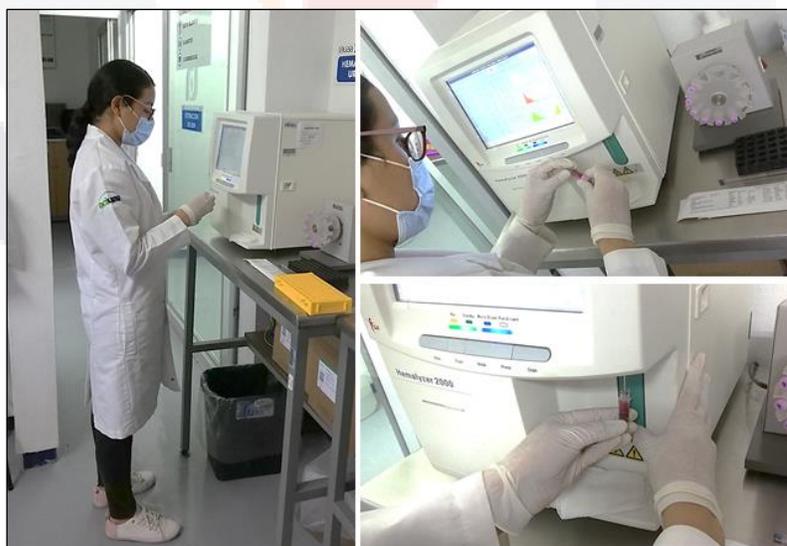


Figura 8. Procedimiento de la hematología completa en Hemalyzer 2000.

4.5.2. Microscopía óptica (MO).

Se recolecto un total de 500 µl de sangre completa obtenida por venopunción yugular depositada en tubos con K2E (K2EDTA) BD Microtainer®, que contiene la cantidad óptima de EDTA di-potásico aplicado por aspersión para anti coagular el volumen especificado de sangre (BD Franklin Lakes NJ USA) para realizar un extendido sanguíneo en portaobjetos. Los frotis de sangre se realizaron dentro de las 3 h posteriores a la recolección sanguínea en el Laboratorio Multidisciplinario de Investigación del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes en La Posta. Se mezclo de 8 a 10 veces suavemente el tubo de sangre, se colocó una gota del tamaño de una cabeza de alfiler en la parte izquierda del portaobjetos (figura 9-A), después se coloca otro portaobjetos a 45° aproximadamente para realizar el barrido y dejar secar (figura 9-B). Los frotis se fijaron con metanol y se dejaron secar (figura 9-C). Después fueron teñidos con colorante Wright, se agrega la tinción hasta cubrir todo el frotis en posición horizontal y se deja durante 6 minutos (evitando que se seque). Posteriormente se agregó el Buffer a la tinción durante 4 minutos, pasado el tiempo indicado, se enjuaga con agua destilada y se deja secar (figura 9-D). Finalmente se agregó entellan® 60% (Merck, Darmstadt Germany) y xilol 40% (JT Baker Avantor, Matsonford Rd), se cubrió con un cubreobjetos para proteger la laminilla y se dejó secar durante 24 horas (figura 5-E) para después realizar la evaluación del frotis con un microscopio óptico ZEISS (Oberkochen, Alemania) (Rick L. Cowell et al., 2009).

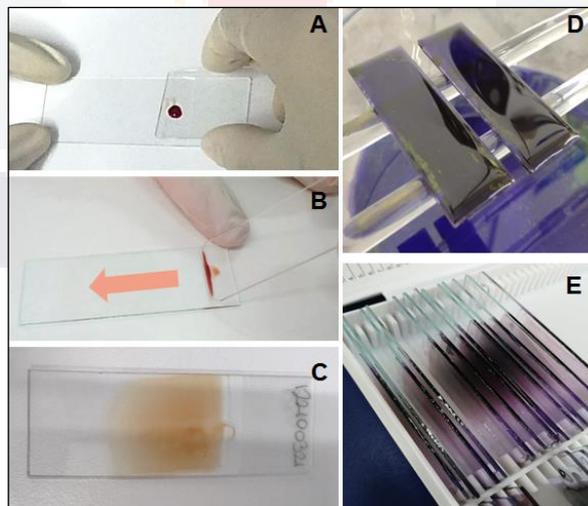


Figura 9. Procedimiento de frotis sanguíneo.

La evaluación del frotis sanguíneo se dividió en tres partes: serie roja, serie blanca y plaquetas (figura 10). Se utilizara una ampliación de 100x para evaluar la morfología de eritrocitos, leucocitos y plaquetas (S Paltrinieri et al., 2010).



Figura 10. Evaluación microscópica del frotis sanguíneo.

4.5.2.1. Serie roja.

En la serie roja se evaluó el tamaño (anisocitosis, macrocitosis y microcitosis), el color (policromatófilos e hipocrómicos), la forma (cambios morfológicos no específicos y específicos), la distribución (pilas de monedas o aglutinación), presencia de cuerpos de inclusión o parásitos eritrocitarios (Ford, 2013; John W. Harvey, 2012; M.A. Thrall, 2006).

4.5.2.2. Serie blanca.

En la evaluación se la serie blanca se realizó la estimación del número total de leucocitos, de la siguiente manera:

1. Localizar la monocapa.
 2. Enfocar en 40x.
 3. Contar el número de leucocitos que se observan en 40x.
 4. Repetir el procedimiento en otros nueve campos a 40x. De este modo se obtiene un valor medio de leucocitos en 10 campos a 40x.
 5. Multiplicar el valor medio obtenido x 1500 para obtener un no. total, de leucocitos/mm³.
- Después se realizó el recuento diferencial de leucocitos, de acuerdo a los siguientes pasos:
1. Identificar los tipos de leucocitos.
 2. Contar entre 100 leucocitos anotando cuantos de ellos pertenecen a cada uno.

3. El conteo se debe realizar en zigzag de izquierda a derecha para evitar contar más de una vez la misma célula.
4. Alcanzada la cifra de 100 células, se obtiene un porcentaje de cada tipo celular.
5. Los valores relativos (%) deben traducirse a valores absolutos (/mm³) multiplicando el número total de tipo celular por el número total de leucocitos sobre 100.
- Finalmente se evaluó la morfología de los leucocitos (John W. Harvey, 2012).

4.5.2.3. Plaquetas.

En la evaluación de las plaquetas se identificó la presencia o ausencia de agregación plaquetaria, si no existen agregados, se puede realizar una estimación del número de plaquetas en el frotis:

1. Localizar la monocapa.
2. Enfocar a 100x.
3. Contar el número de plaquetas observadas por campo.
4. Repetir este procedimiento en otros 9 campos y obtener un valor medio.
5. Multiplicar el valor medio por 15000 para obtener el valor de plaquetas/mm³ (John W. Harvey, 2012).

4.5.2.4. Parámetros morfológicos del eritrocito (MO).

Se obtuvieron micrografías ópticas para evaluar los parámetros eritrocitarios (diámetro, altura y relación axial). El diámetro o eje mayor se midió en todos los eritrocitos y se trazó una línea perpendicular en el centro del diámetro para establecer la altura. Luego, la relación axial se calculó dividiendo el diámetro entre la altura; un valor de 1 representa un círculo perfecto (Loyola-Leyva et al., 2019). Para ello se utilizó la escala del Software Amscope™ (USA) (figura 11). Por cada perro seleccionado, se midieron los parámetros de 20 eritrocitos para comparar los cambios morfológicos entre los grupos de estudio (adultos, senior y geriatras). Por lo tanto, se escanearon un total de 2,600 células.

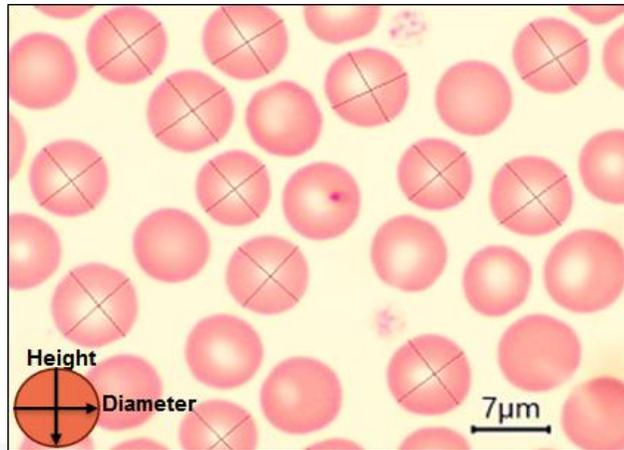


Figura 11. Frotis de sangre de perros sanos, que muestra las posiciones para los cálculos de diámetro y altura a partir de micrografías ópticas utilizando el software AmScope. Se midió el diámetro o eje mayor en los eritrocitos y se trazó una línea perpendicular en el centro del diámetro para establecer la altura. Barra de escala = 7 µm.

4.5.3. Microscopía electrónica de barrido (MEB).

En la MEB se analizaron a parte cuatro muestras de sangre de perros clínicamente sanos, clasificados de la siguiente manera: grupo I adultos (dos perros de 1 a 7,9 años), grupo II senior (un perro de 8 a 11,9 años) y grupo III (un perro > 12 años de edad) (Radakovich et al., 2017).

Se recolecto un total de 3 ml de sangre completa obtenida por venopunción yugular depositada en tubos con K2EDTA BD Vacutainer®, que contiene la cantidad óptima de EDTA di-potásico aplicado por aspersion para anti coagular el volumen especificado de sangre (BD Franklin Lakes NJ USA). Una vez obtenida la muestra de sangre, fue centrifugada a 2000 rpm durante 10 minutos para separar la capa de leucocitos que fue depositada en un tubo eppendorf de 1.5 ml y se le agrego glutaraldehído (JT Baker Avantor, Matsonford Rd) como conservador hasta su posterior análisis. Después fue centrifugada a 6000 rpm durante 1 minuto, obteniendo solo el precipitado al decantar la muestra, al precipitado se le agrego buffer fosfato salino (PBS) solución 1X (Merck, Darmstadt Germany) y se mezcló dejándolo reposar durante 5 minutos, este procedimiento se realizó 3 veces (figura 12-A); después se agregó alcohol al 60% y se dejó reposar durante 10 minutos, transcurrido el tiempo la muestra fue centrifugada nuevamente a 6000 RPM durante 1 minuto, este procedimiento se repitió con alcohol al 70%, 80%, 90%, 96% y 100%; por último se agregó acetona pura al 100% y se fijó en un cilindro de aluminio con fondo oscuro (figura 12-B) para posteriormente ser recubierta con partículas de oro en el equipo Desk II Denton vacuum (Lawrence, Kansas) y finalmente se

observó en el microscopio electrónico de barrido JEOL JMS-5900V de la figura 12-C (Ciudad de México) (Fischer et al., 2012; JEOL, 2001).

Se obtuvieron micrografías de los eritrocitos por MEB. Algunas imágenes de microscopía electrónica fueron editadas con el software Adobe Photoshop (Adobe Systems Incorporated) para agregar color a las células sanguíneas.

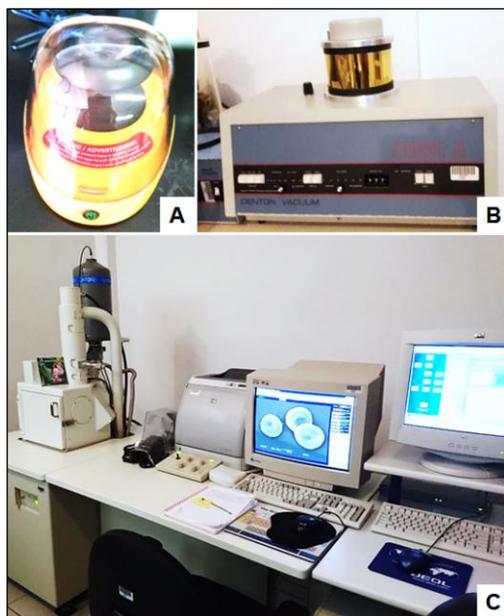


Figura 12. Microscopio electrónico de barrido JEOL.

4.5.4. Bioquímica sanguínea.

Se recolectaron muestras de 5 ml de sangre completa obtenida por venopunción yugular depositada en tubos al vacío y con activador de coagulación (BD Vacutainer; BD Medical Technology, Franklin Lakes, NJ). No se utilizó ningún tipo de anestesia o sedación al tomar la muestra de sangre. La separación del suero se realizó mediante centrifugación (Ultra-8 digital, LW Scientific, Lawrenceville, GA) de 5 a 10 minutos a 2500 RPM (846 RCF) una vez que la muestra se coagulo dentro de la primera hora después de la extracción de sangre, manteniéndola a temperatura ambiente (figura 13). El suero se transfirió a un tubo de 1,5 ml (Eppendorf, Hamburgo, Alemania). El análisis bioquímico se realizó el mismo día; cuando no fue posible realizar análisis el mismo día, el suero se congeló a -20°C (-4°F) y se protegió de la luz hasta el análisis al día siguiente, evitando varios ciclos de congelación y descongelación (Gislefoss et al., 2017).

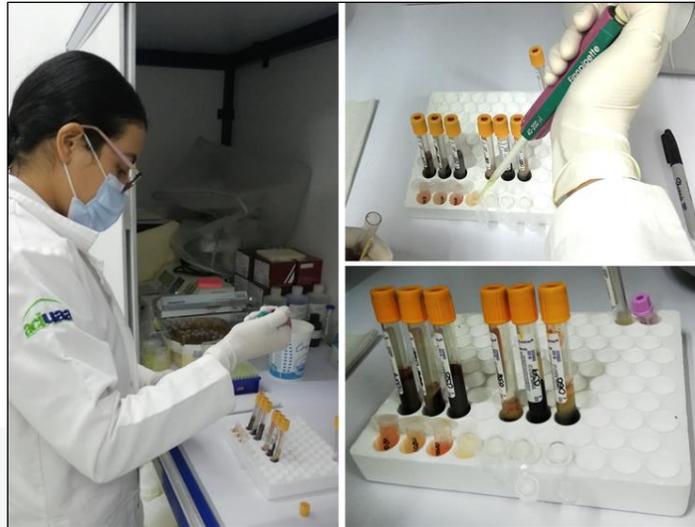


Figura 13. Obtención de suero sanguíneo.

Se obtuvieron los valores bioquímicos de ALT, AST, FA, GGT, colesterol, glucosa, proteína total, albúmina, globulinas, relación A/G, creatinina, BUN, urea, relación BUN/creatinina, calcio, fosforo y la concentración de hierro mediante un espectrofotómetro BTS-350 (BioSystems, Barcelona, España; figura 14) y reactivos (Pointe Scientific, Canton, MI).



Figura 14. Espectrofotómetro BTS-350 BioSystems.

El análisis se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, utilizando métodos estandarizados como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de las técnicas de laboratorio.

Analito	Método/Principio	Tipo de ensayo	Modo de lectura	Tipo de reacción	Longitud de onda
ALT	IFCC modificado	Cinético	-	Decreciente	340 nm
AST	IFCC modificado	Cinético	-	Decreciente	340 nm
FA	p-NPP	Cinético	-	Creciente	405 nm
GGT	GLUPA-C	Cinético	-	Creciente	405 nm
Colesterol	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
BUN	Ureasa, GLDH	Tiempo fijo	-	Decreciente	340 nm
Creatinina	Jaffe, ácido pícrico	Cinético	-	Creciente	510 nm
Calcio	Arsenazo III	Punto final	Monocromática	Creciente	670 nm
Fósforo	Molibdato de amonio	Punto final	Monocromática	Creciente	340 nm
Hierro	Ferroziana	Punto final	Bicromática	Creciente	635 nm

IFCC indicates International Federation of Clinical Chemistry; GLUPAC, Lγ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanalide; 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).

Para realizar la bioquímica sanguínea se consideraron las pautas generales de calidad y estándares de laboratorio de la *American Society for Veterinary Clinical Pathology* (ASVCP) (Arnold et al., 2019; Gunn-christie et al., 2012). Se evaluó el funcionamiento del instrumento analítico con curvas de calibración (anexos 3-15) para cada analito de sangre en GraphPad Prism versión 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA). Además, el espectrofotómetro BTS-350 (BioSystems, Barcelona, España) cuenta con un sistema de control de calidad interno basado en la tabla de Levey-Jennings; este análisis nos permitió aplicar las reglas de Westgard. Antes de analizar cada determinación, los métodos analíticos se calibraron según las instrucciones del fabricante con la ayuda de un calibrador químico y controles comerciales (niveles I y II; figura 15) (Pointe Scientific, Canton, MI) (Arnold et al., 2019). Se excluyeron del análisis bioquímico las muestras de sangre lipémicas, hemolizadas e ictéricas (Friedrichs et al., 2012).

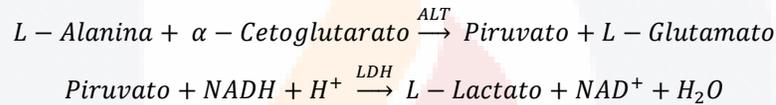


Figura 15. Control de calidad.

Calibrador, controles y estándar comerciales para calibrar y evaluar el funcionamiento del equipo BTS-350.

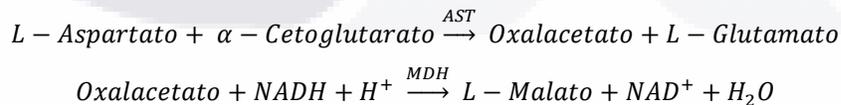
4.5.4.1 Cuantificación de alanino aminotransferasa.

La ALT cataliza la transferencia del grupo amino de la L-alanina de α -cetoglutarato resulta en la formación de piruvato y L-glutamato, el 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 3 se observa la descripción detallada de la metodología.



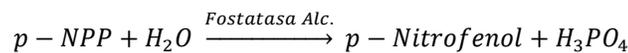
4.5.4.2 Cuantificación de aspartato aminotransferasa.

La AST cataliza la transferencia del grupo amino de la L-aspartato de α -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 et al., 1979); anexo 4).



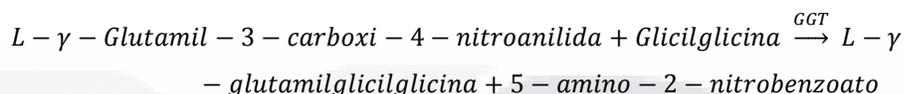
4.5.4.3. Cuantificación de fosfatasa alcalina.

El éster p-Nitrofenil fosfato (p-NPP) es hidrolizado a p-Nitrofenol y fosfato inorgánico (H_3PO_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 et al., 1983); anexo 5).



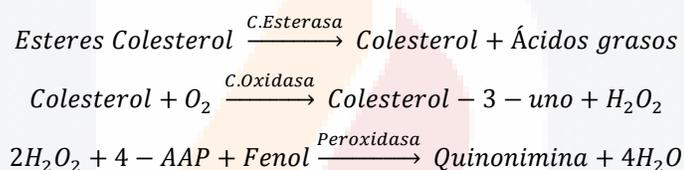
4.5.4.4. Cuantificación de γ -glutamyl transferasa.

Los métodos para la determinación de GGT se basan en el uso de derivados de glutamilo de aminas aromáticas como material de sustrato (Demetriou et al., 1974). Este reactivo utiliza el soluble derivado de 3-carboxilo. La GGT en la muestra cataliza la transferencia del grupo glutamyl de γ -glutamyl-3-carboxi-4-nitroanilida (GLUPA-C) 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 6).



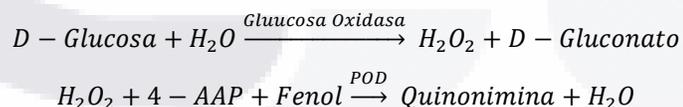
4.5.4.5. Cuantificación de colesterol.

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 7).



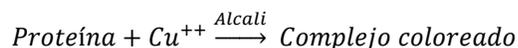
4.5.4.6. Cuantificación de glucosa.

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 8).



4.5.4.7. 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 9).



4.5.4.8. Cuantificación de albúmina.

(Batholomew & 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 10).

4.5.4.9. Cuantificación de globulinas.

Las globulinas se determinaron restando la concentración de albúmina de la concentración de proteína total (Rortveit et al., 2015; Zapryanova et al., 2017).

4.5.4.10. Cuantificación de la relación albúmina globulina (A/G).

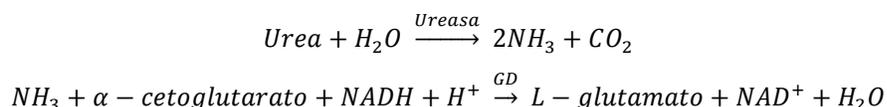
La relación de la albúmina globulina (A/G) se calcula utilizando la fórmula, Relación A/G= (Nivel de Albúmina) / (Proteína Total - Albúmina) (Guner & Seker, 2020).

4.5.4.11. 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 11).

4.5.4.12. Cuantificación de nitrógeno de urea en sangre (BUN).

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 en urea. La urea es hidrolizada por la ureasa para producir amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco liberado reacciona con α -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 & Schubert, 1965); anexo 12).



4.5.4.13. Cuantificación de Urea.

La Urea en mg/dl se calculó multiplicando BUN por 2.14 (Jurado G et al., 2011) .

4.5.4.14. Relación BUN: creatinina.

La relación BUN:creatinina se calcula utilizando la fórmula, Relación BUN:creatinina = BUN (mg/dl) / creatinina (mg/dl) (Llauger et al., 2018).

4.5.4.15. Cuantificación de calcio.

La metodología de enlaces coloreados específicos se ha hecho popular para la determinación de calcio porque es rápida, conveniente y barata. El procedimiento usa los colorantes alizarin-3sulfonato y metiltimol azul. En 1966 (Connerty & Briggs, 1966) desarrollaron un método usando o-cresoltaleína complexona como cromógeno. El método de la o-cresoltaleína complexona ha sido el método más comúnmente usado para la determinación de calcio. El presente procedimiento usa Arsenazo III y ha sido modificado para prever una sensibilidad más alta y un reactivo más estable. Se previene la interferencia de magnesio por la inclusión de 8-hidroquinolina sulfonato (anexo 13).



4.5.4.16. Cuantificación de fósforo.

La medición de fósforo inorgánico en suero va usualmente ligada a la formación de un complejo fosfomolibdato y una reducción de un complejo de molibdeno color azul. La cuantificación del fosfomolibdato no reducido fue reportado en 1946. Por su parte (Amador & Urban, 1972) modificaron el procedimiento utilizando un solo reactivo para el rango U.V. (anexo 14).



4.5.4.17. Cuantificación de hierro.

El hierro en suero forma un complejo con la Transferrina, una proteína transportadora. Los primeros procesos incluían disociación del complejo, precipitación de la proteína y determinación del hierro en el filtrado libre de proteínas. En 1971 (Persijn et al., 1971) presentaron un método que no requiere precipitación y es más sensible. El procedimiento presente es una modificación del método de Persijn. El hierro unido a la transferrina es

liberado en un pH ácido reducido a iones ferrosos. Estos iones reaccionan con la ferroziana para producir un complejo violeta (anexo 15).

4.6. ANALISIS ESTADÍSTICO.

Los datos y resultados de cada individuo fueron capturados y ordenados en una hoja electrónica de Microsoft Excel®. Todos los datos se agruparon por edad (1 a 7.9, 8 a 11.9 y >12 años de edad), sexo y talla. El análisis estadístico se realizó con Minitab 17® (Minitab Statistical Software Inc., State College, Pennsylvania). Considerando un nivel de significancia $p < 0.05$.

En todos los datos se evaluó el efecto de la edad, sexo y talla. Se realizó una inspección visual de la distribución de las observaciones a través de histogramas y usando una prueba de normalidad de Anderson-Darling (Khan, 2013a). También se evaluó la homocedasticidad de varianzas, para determinar si la varianza de dos o más grupos era significativamente diferente, usamos una prueba de múltiples comparaciones y la prueba de Levene. Estos métodos son válidos en distribuciones no normales, mientras que en distribuciones normales se utiliza la prueba de Bartlett. Todas las pruebas de varianza utilizaron un nivel de confianza del 95 % (Lesik, 2018).

El análisis estadístico utilizó un análisis de varianza (ANOVA) con un modelo lineal general (MLG), que permite la comparación de múltiples factores en dos o más niveles ($p < 0.05$). La frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal, el puntaje cognitivo, los componentes hematológicos, los parámetros eritrocitarios y los analitos bioquímicos representan las variables de respuesta (dependientes), mientras que la edad, el sexo y el tamaño corporal representan los factores (variables independientes). También se evaluó la interacción entre los factores. Cuando los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se realizó una transformación de Box-Cox utilizando un lambda óptima (λ) de Minitab con un nivel de confianza del 95 %. Posteriormente, se realizó un método de comparación múltiple (Tukey) con un nivel de confianza del 95 % (Khan, 2013b).

Los intervalos de referencia se calcularon utilizando el software *Reference Value Advisor* (RefValAdvV.2.1, <http://www.biostat.envt.fr/reference-value-advisor/>) basado en las recomendaciones de la *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) y el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (Geffré et al., 2011). Este software detectó posibles valores atípicos mediante la inspección visual de histogramas y diagramas de

puntos, además se realizó la prueba de Dixon simple, que identifica un valor extremadamente alto o bajo como un valor atípico potencial (Friedrichs et al., 2012; Geffré et al., 2011). Si una muestra de sangre contribuyó a más de una observación periférica, se excluyeron todos los resultados de esa muestra, ya que esto podría indicar una enfermedad subclínica (Rortveit et al., 2015). Por tanto, los valores obtenidos de la muestra de sangre de diez perros se excluyeron del análisis estadístico porque se detectó una enfermedad subclínica.



CAPÍTULO 5: RESULTADOS

5.1. ENCUESTA.

De una población de 1,425,607 habitantes según el INEGI 2020, se obtuvo un tamaño de muestra de 543 encuestas con un nivel de confianza del 98 % y un margen de error del 5 %. Sin embargo, se lograron obtener 559 encuestas completadas, es importante mencionar que cada encuesta incluye una política de privacidad de protección de datos. Las personas que respondieron la encuesta se encontraban en un rango de 18 a 63 años de edad. A cada encuestado, se les solicitó el número de habitantes por vivienda, obteniendo un promedio de 3.5 personas por casa habitación. Además, de las 559 encuestas se contabilizó un total de 1,969 habitantes de los que 1,787 tenían desde uno hasta diez perros como mascota, mientras que 182 no tenían perro. Por lo tanto, la proporción de perros por habitante encontrada en este estudio fue de 1,112:1,969; es decir, un perro por cada 1.8 personas (tabla 2). Con base a este dato y a la población de habitantes en Aguascalientes según el INEGI en el 2020 se estimó una población de 805,117 perros en Aguascalientes.

El 9 % (51) de las encuestas declararon no tener un perro, por diversas razones: al 8 % no les gustan los perros como mascota, el 55 % no puede tener un perro, aunque si les gustan, el 14 % prefiere otro tipo de mascota y 23% mencionan que a pesar de que pueden tener un perro y son de su agrado, por el momento no quieren tener uno (figura 16).

Tabla 2. Número de encuestas electrónicas realizadas en diferentes municipios del Estado de Aguascalientes, total de habitantes y perros como mascota.

Municipio	Encuestas sin perro	Encuestas con perro	Total de encuestas	Habitantes sin perro	Habitantes con perro	Total de habitantes	Total de perros
<i>Aguascalientes</i>	37	383	420	131	1359	1490	818
<i>Asientos</i>	0	2	2	0	7	7	5
<i>Calvillo</i>	1	0	1	5	0	5	0
<i>Cosío</i>	0	2	2	0	8	8	11
<i>Jesús María</i>	10	86	96	37	286	323	194
<i>Pabellón de Arteaga</i>	0	1	1	0	4	4	1
<i>Rincón de Romos</i>	0	2	2	0	6	6	3
<i>El Llano</i>	0	6	6	0	28	28	12
<i>San Fco. de los Romo</i>	3	26	29	9	89	98	68
Total	51	508	559	182	1787	1969	1112

¿Por qué no tiene algún perro de mascota?



Figura 16. Principales razones por las que los habitantes de Aguascalientes no tienen un perro como mascota.

De una n de 559 encuestas, el 9% declara no tener un perro de mascota por diversas razones, entre las que se destaca con un 55% no poder tener un perro a pesar de ser una mascota de su agrado.

Mientras que, el 91 % (508) de las encuestas tenían al menos un perro como mascota, de los cuales el 97 % aseguraron tener un perro por aprecio o afecto, el 2 % por seguridad y el 1 % lo recibieron como obsequio. El promedio de perros por vivienda fue de 1.9, con un rango de uno a diez perros, el 43 % (217) declararon tener solo un perro, el 27 % (140) solo dos perros, el 14 % (73) tres perros y el resto (16 %) más de tres perros (figura 17).

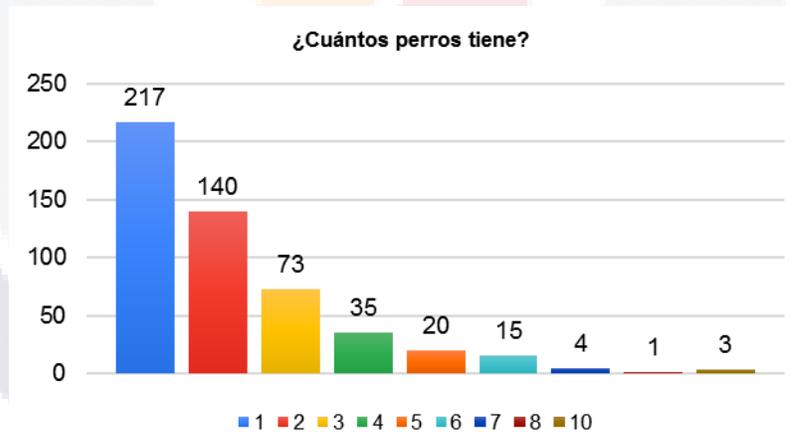


Figura 17. Número de perros que tienen los habitantes de Aguascalientes.

De una n de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, obteniendo un promedio de 1.9 perros por vivienda. El 84% (430) declaró tener de 1 a 3 perros mientras que el 16% (78) más de tres perros.

Además, se cuestionó cual era la etapa de vida que preferían en su mascota, la figura 18 según esta encuesta muestra que el 24 % (120) de los habitantes de Aguascalientes prefieren a los cachorros, el 4 % (21) a los perros adultos y únicamente en tres encuestas

prefieren a los perros envejecidos, sin embargo, para el 72 % (364) les es indistinta la etapa de vida en la que se encuentre su perro.

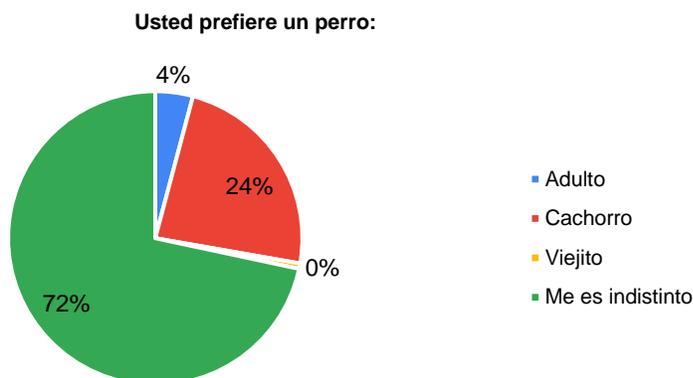


Figura 18. Etapa de vida del perro que prefieren los habitantes de Aguascalientes propietarios de mascotas.

De una *n* de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, en donde para el 73% (364) les es indistinto la etapa de vida en la que se encuentre su perro, mientras que el 24% (120) prefieren a los cachorros.

Por otro lado, se obtuvo un total de 1,112 perros con propietario, clasificados en diferentes grupos de edades que se muestran en la figura 19, en la siguiente proporción: 6 % (< 6 meses de edad), 7 % (6-11 meses de edad), 64 % (1 a 7.9 años de edad), 19 % (8-11.9 años de edad) y el 4 % (>12 años de edad).

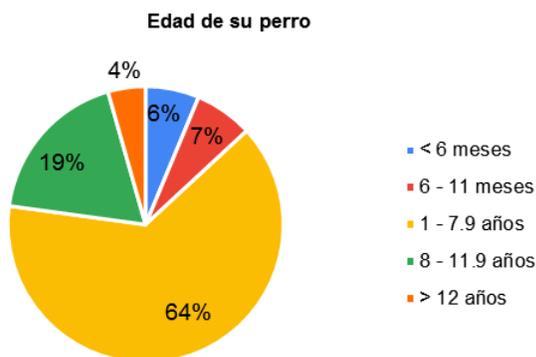


Figura 19. Clasificación por edad en la que se encuentran los perros con propietario de Aguascalientes.

De una *n* de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, contabilizando un total de 1,112 perros con propietario, en donde el 64% de los perros (712) tienen de 1 a 7.9 años de edad, el 19% (205) de 8 a 11.9 años de edad, el 7% (76) de 6 a 11 meses de edad, el 6% (70) menos de 6 meses de edad y el 4% (49) es mayor a 12 años de edad.

Al cuestionar la importancia de una vejez saludable en el perro, todos los propietarios (508) consideran importante que su mascota tenga una vejez saludable. Por lo tanto, a cada propietario se le pidió que señalara las actividades que está realizando para lograrlo,

según consideren más importante, el 10 % indico que en la actualidad no están haciendo nada, pero les interesaría aprender; mientras que el 56 % realiza al menos 2 visitas al año con el veterinario, el 20 % se preocupa por una buena alimentación, el 11 % procura la actividad física de su mascota y menos del 3 % ofrece algún suplemento alimenticio o enriquecimiento ambiental (figura 20).

¿Usted qué hace para ayudar a su perro a tener una vejez saludable?

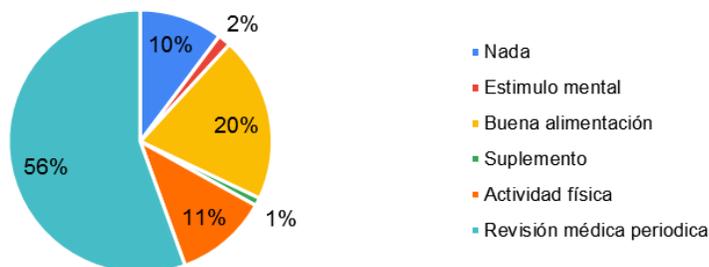


Figura 20. Actividades que realizan los propietarios de perros en Aguascalientes para conseguir una vejez saludable de su mascota.

De una *n* de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, en donde el 56% (282) realiza revisiones médicas periódicas, el 20% (103) ofrece una buena alimentación, el 11% (58) realiza actividad física, el 10% (52) no hace nada, aunque desea aprender, el 2% (8) realiza la estimulación mental de su perro y el 1% (5) ofrece un suplemento alimenticio.

En cuanto al sexo, de los 1,112 perros se identificó una proporción de 657 hembras (59%) y 455 machos (41 %). Con respecto a su estado reproductivo, únicamente el 35 % (385) han sido esterilizados quirúrgicamente, mientras que el 65 % (727) no lo están. Además, se clasificaron en diferentes razas según su talla, el 45 % pertenecen a una raza de tamaño corporal pequeño, 35 % mediano, el 19 % grande y únicamente el 1 % gigante (figura 21).

Razas segun su tamaño corporal (kg)

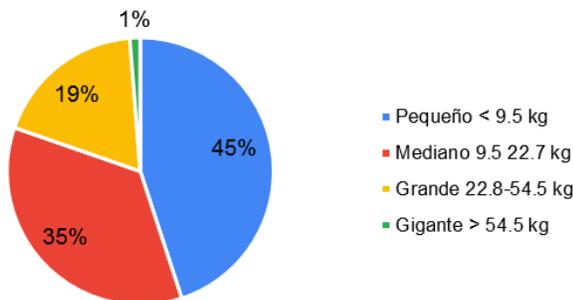


Figura 21. Clasificación por tamaño corporal en la que se encuentran los perros con propietario de Aguascalientes.

De una *n* de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, contabilizando un total de 1,112 perros con propietario, en donde el 45% de los perros (500) son de tamaño corporal pequeño, el 35% (393) mediano, el 19% (205) grande y el 1% (14) gigante.

Mientras que el 52 % (580) de los perros detectados en las encuestas, fueron de raza mestiza (criolla, mezcla de diferentes razas) y el 48 % (532) pertenecen a alguna raza pura, de este porcentaje se identificaron un total de 47 razas que se muestran en la figura 22, donde se destacaron 6 de ellas, en primer lugar, se sitúa la raza chihuahua siendo la preferida por los habitantes de Aguascalientes según esta encuesta, posteriormente a esta se encuentran las razas french poodle, pit bull terrier, schnauzer, pug y husky siberiano.

Tipos de razas de perros

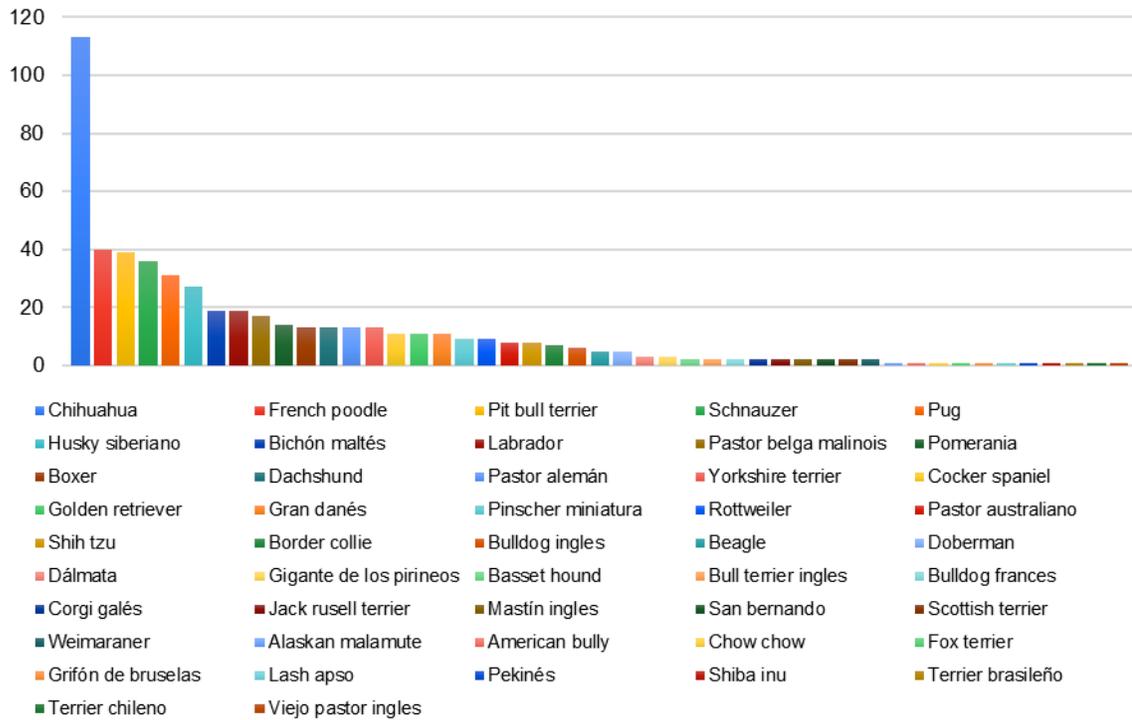


Figura 22. Clasificación por tipo de raza (pura) a la que pertenecen los perros con propietario de Aguascalientes.

De una *n* de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, contabilizando un total de 1,112 perros con propietario, en donde el 48% de los perros (532) pertenecen a un tipo de raza pura. La raza preferida por los habitantes de Aguascalientes es la chihuahua con el 21% (113) de aceptación.

En cuanto al tipo de alimentación de las 508 encuestas de habitantes de Aguascalientes propietarios de perros como mascota, el 65 % (330) declara suministrar únicamente un alimento comercial (croquetas), entre el que se identificó un total de 45 marcas diferentes, principalmente Dog chow, después Pedigree, Woow y Nupec. Por otro lado, un 34 % (172) señaló ofrecer una dieta mixta (croqueta más comida casera) y el 1 % (6) únicamente ofrece comida casera (figura 23).

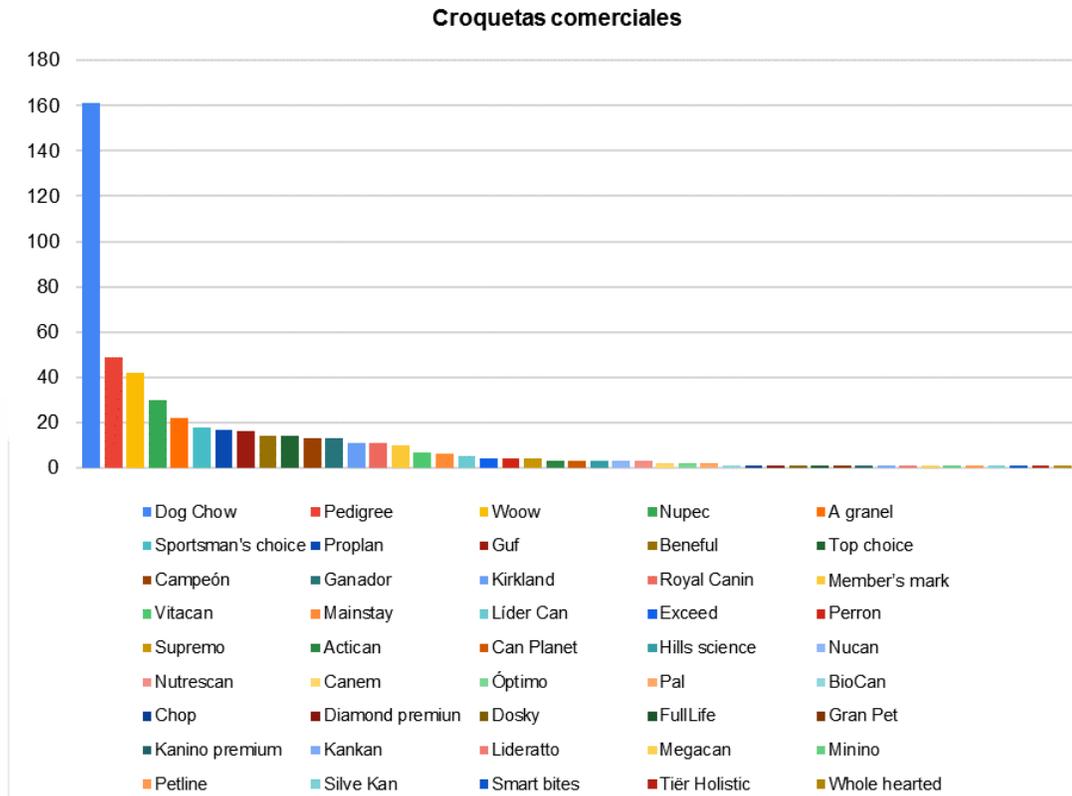


Figura 23. Nombres comerciales de croquetas seleccionadas por los propietarios de perros como mascotas en Aguascalientes.

De una n de 559 encuestas, el 91% (508) declara tener uno o más perros de mascota, en donde el 65% de los perros (330) suministran a su perro una dieta basada únicamente en alimento comercial. El alimento mayormente adquirido por los habitantes de Aguascalientes para sus mascotas pertenece a la marca Dog Chow con el 31% (161) de preferencia.

Con respecto a la medicina preventiva que realizan los propietarios con sus mascotas, de los 1,112 perros el 85 % están vacunados y el 79 % desparasitados. Mientras que al 95 % de los 508 propietarios les interesaría realizar un examen clínico y pruebas de laboratorio (gratuitas) a sus mascotas, el otro 5 % no está interesado en ello.

Finalmente, también se cuestionó a los 559 encuestados a cerca de los perros en situación de calle (callejeros o sin propietario), primeramente se les pidió que informarían si habían visto perros en situación de calle en su fraccionamiento, respondiendo únicamente sí o no según fuese el caso, en donde el 79 % (439) afirmo haber observado perros callejeros, posteriormente se les solicito que mencionaran aproximadamente ¿cuántos perros en situación de calle habían observado, específicamente en su fraccionamiento en un día normal?. Como resultado se obtuvo un total de 1,810 perros en situación de calle observados de manera subjetiva en los diferentes municipios de Aguascalientes.

5.2. EXPLORACIÓN FÍSICA.

Se recolectaron un total de 148 muestras de sangre de perros en diferentes etapas de edad (47 adultos, 50 senior y 51 geriatras), sexo (82 hembras y 66 machos), mestizos y de raza pura. Setenta y cuatro perros eran de razas mixtas y 74 perros eran de raza pura. Todos los perros se agruparon según su tamaño corporal: 81 perros pequeños, 25 perros medianos y 42 perros grandes. En cada grupo de edad estuvieron representados una variedad de perros pequeños, medianos y grandes, así como razas puras y mixtas. Adicionalmente se obtuvieron cuatro muestras de sangre para obtener las imágenes MEB (2 adultos, un senior y un geriatra).

Diecinueve muestras de sangre fueron excluidas de los análisis hematológicos y bioquímicos, debido a la presencia de hemolisis, lipemia o coágulos (sangre para hematología). Además, los valores de diez perros se excluyeron del análisis estadístico debido a enfermedades subclínicas subyacentes. Los siguientes datos estadísticos se informan en los resultados: la distribución, igualdad de varianzas, media (M), desviación estándar (SD) y el nivel de significancia (p).

5.2.1. Constantes fisiológicas (FC, FR y temperatura rectal).

Por otro lado, los resultados obtenidos de las constantes fisiológicas se muestran en la tabla 3. Se evaluó el efecto de la edad, el sexo y el tamaño del corporal sobre dichas constantes fisiológicas.

La distribución de la frecuencia cardíaca (FC) no fue normal (p 0,013) y las varianzas fueron iguales (p 0,292). No se identificó un efecto de la edad (p 0,105), sexo (p 0,485), tamaño corporal (p 0,132) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,851) sobre la frecuencia cardíaca. Con respecto a la distribución de la frecuencia respiratoria (FR) no fue normal (p <0,005) y las varianzas fueron iguales (p 0,993). No se identificó un efecto de la edad (p 0,711), sexo (p 0,433), tamaño corporal (p 0,339) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,703) sobre la frecuencia cardíaca. En cuanto a la distribución de la temperatura rectal no fue normal (p <0,005) y las varianzas fueron iguales (p 0,654). No se identificó un efecto de la edad (p 0,067), sexo (p 0,760), tamaño corporal (p 0,791) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,994) sobre la temperatura rectal. Se obtuvo una media general ($n = 129$) de la temperatura rectal de 38,8 °C (SD 0,4 °C) y un rango de 38,1 °C a 39,6 °C en perros de 1 a 17.5 años de edad.

5.2.2. Puntaje de disfunción cognitiva canina.

En la evaluación de la disfunción cognitiva canina (CCD) observamos que el puntaje tiende incrementar conforme avanza la edad. Un puntaje ≥ 50 es indicativo de una disfunción cognitiva canina. En la tabla 3 se muestran los datos estadísticos de los componentes hematológicos, la media, desviación estándar, mediana, el rango intercuartílico y la diferencia significativa con un intervalo de confianza del 95 %, el límite inferior y el límite superior se determinaron con un intervalo de confianza del 90 %. Se evaluó el efecto de la edad, el sexo y el tamaño del corporal sobre el puntaje de CCD.

Los siguientes datos estadísticos se informan en los resultados: el nivel de significancia (p), la media (M) y la desviación estándar (SD). La distribución del puntaje de disfunción cognitiva canina no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas no fueron iguales ($p 0,008$). Se observó un efecto significativo de la edad ($p 0,000$) sobre la altura. En la figura 24-A se muestra que el puntaje cognitivo en perros adultos ($M 34$, $SD 0,33$) fue significativamente menor que el puntaje cognitivo de perros senior ($M 37$, $SD 3,9$; $p 0,003$) y geriatras ($M 38$, $SD 4,2$; $p 0,000$). Además, en la figura 24-B los puntajes de CCD se ajustaron a una línea lineal, en donde se observó que la puntuación aumentó significativamente con la edad ($y = 0,4142x + 32,67$; $R^2 = 0,2248$; $p < 0,0001$). No se identificó un efecto del sexo ($p 0,435$), tamaño corporal ($p 0,130$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,443$) sobre el puntaje cognitivo.

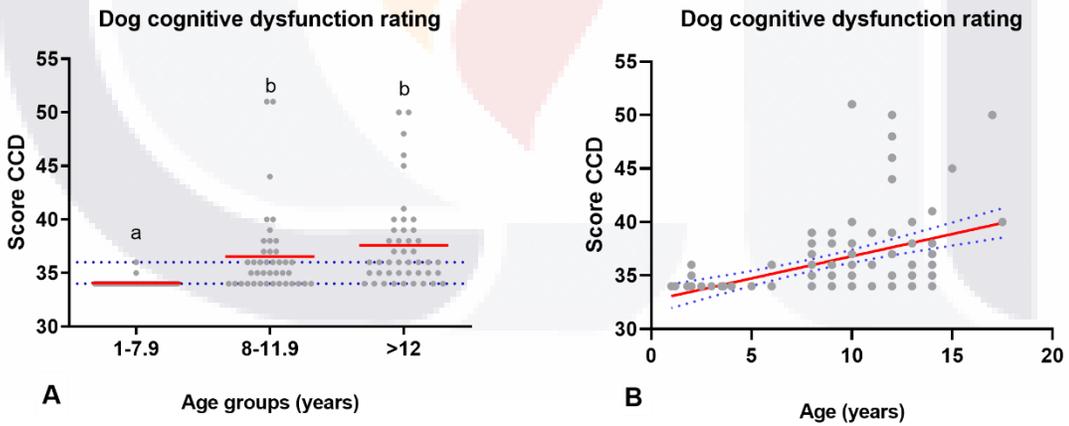


Figura 24. Puntuación de disfunción cognitiva del perro (CCD).
 (A) Comparación de las medias (línea roja) del puntaje de la evaluación cognitiva entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%. (B) Cambios relacionados con la edad en la puntuación CCD (regresión lineal).

Tabla 3. Contantes fisiológicas (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal,) y puntaje de CCD en perros de diferentes edades.

Variables	AD	Adultos 1 – 7.9 años n 44		Senior 8-11.9 años n 41		Geriatras > 12 años n 44		General 1 - 17.5 años n 129		Valor p
		Media (SD) Mediana (IQR)	LL (90% CI) UL (90% CI)	Media (SD) Mediana (IQR)	LL (90% CI) UL (90% CI)	Media (SD) Mediana (IQR)	LL (90% CI) UL (90% CI)	Media (SD) Mediana	LL (90% CI) UL (90% CI)	
FC (lpm)	NG	127 (22.7) ^a 120 (28)	88 (88-96) 160 (155-160)	126 (22.9) ^a 124 (40)	80 (80-96) 160 (160-160)	116 (18.8) ^a 112 (30)	84 (84-89) 164 (144-168)	123 (22) 120	85 (80-92) 166 (160-172)	0,105
FR (rpm)	NG	35 (8.3) ^a 40 (11.5)	20 (20-20) 44 (44-44)	34 (7.6) ^a 36 (12)	20 (20-20) 44 (44-44)	33 (8.9) ^a 31 (16)	20 (20-20) 48 (47-48)	34 (8.3) 36	20 (20-20) 48 (44-48)	0,711
T° (°C)	NG	38.9 (0.47) ^a 38.8 (0.8)	38.3 (38.3-38.3) 39.8 (39.4-39.8)	38.9 (0.37) ^a 38.9 (0.4)	38.1 (38.1-38.5) 39.6 (39.4-39.8)	38.6 (0.5) ^a 38.7 (0.65)	37.5 (37.5-38.1) 39.4 (39.3-39.4)	38.8 (0.4) 38.8	38.1 (37.5-38.2) 39.6 (39.4-39.8)	0,67
Score CCD	NG	34 (0.33) ^a 34 (0)	34 (34-34) 36 (34-36)	37 (3.95) ^b 35 (3)	34 (34-34) 51 (40-51)	38 (4.23) ^b 36 (4)	34 (34-34) 50 (47-50)	36.1 (3.6) 36	34 (34-34) 50 (44-50)	0,000

AD = prueba de normalidad Anderson-Darling; CCD = Disfunción cognitiva canina; CI = Intervalo de confianza; FC = frecuencia cardiaca; FR = frecuencia respiratoria; °C = grados centígrados; IQR = rango intercuartílico; LL: Límite inferior del intervalo de referencia; UL: Límite superior del intervalo de referencia; lpm = latidos por minuto; NG = no Gaussiana; rpm = respiraciones por minuto; SD = desviación estándar. T° = Temperatura rectal. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) p < 0.05

5.3. HEMATOLOGÍA.

5.3.1. Serie roja (GR, HGB, HCT, VCM, MCH, MCHC y RDW).

En la tabla 4 se muestran los datos estadísticos de los componentes hematológicos, la media, desviación estándar, mediana, el rango intercuartílico y la diferencia significativa con un intervalo de confianza del 95%, el límite inferior y el límite superior se determinaron con un intervalo de confianza del 90%. Se evaluó el efecto de la edad, el sexo y el tamaño del corporal sobre los componentes hematológicos (serie roja, serie blanca y plaquetas).

Los siguientes datos estadísticos se informan en los resultados: el nivel de significancia (p), la media (M) y la desviación estándar (SD). La distribución de los glóbulos rojos fue normal (p 0,931) y las varianzas no fueron iguales (p 0,007). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,710), sexo (p 0,854), tamaño corporal (p 0,076) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,976) sobre los glóbulos rojos (GR) (figura 25-A). La distribución de la hemoglobina (HGB) fue normal (p 0,859) y las varianzas iguales (p 0,173). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,400), sexo (p 0,453), tamaño corporal (p 0,238) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,919) sobre la hemoglobina (figura 25-B). La distribución del hematocrito fue normal (p 0,991) y las varianzas no fueron iguales (p 0,022). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,690), sexo (p 0,601), tamaño corporal (p 0,312) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,952) sobre el hematocrito (figura 25-C).

La distribución del volumen corpuscular medio (VCM) no fue normal (p 0,034) y las varianzas iguales (p 0,915). No se observó un efecto significativo de la edad el VCM (p 0,811), sexo (p 0,376), tamaño corporal (p 0,139) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,498) (figura 26-A). La distribución del contenido medio de hemoglobina (MCH) fue normal (p 0,742) y las varianzas iguales (p 0,227). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,482), sexo (p 0,445), tamaño corporal (p 0,423) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,653) sobre el MCH (figura 26-B). La distribución de la concentración media de hemoglobina (MCHC) no fue normal (p 0,008) y las varianzas iguales (p 0,022). No se identificó un efecto significativo de la edad (p 0,212), sexo (p 0,490), tamaño corporal (p 0,230) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,444) sobre el MCHC (figura 26-C).

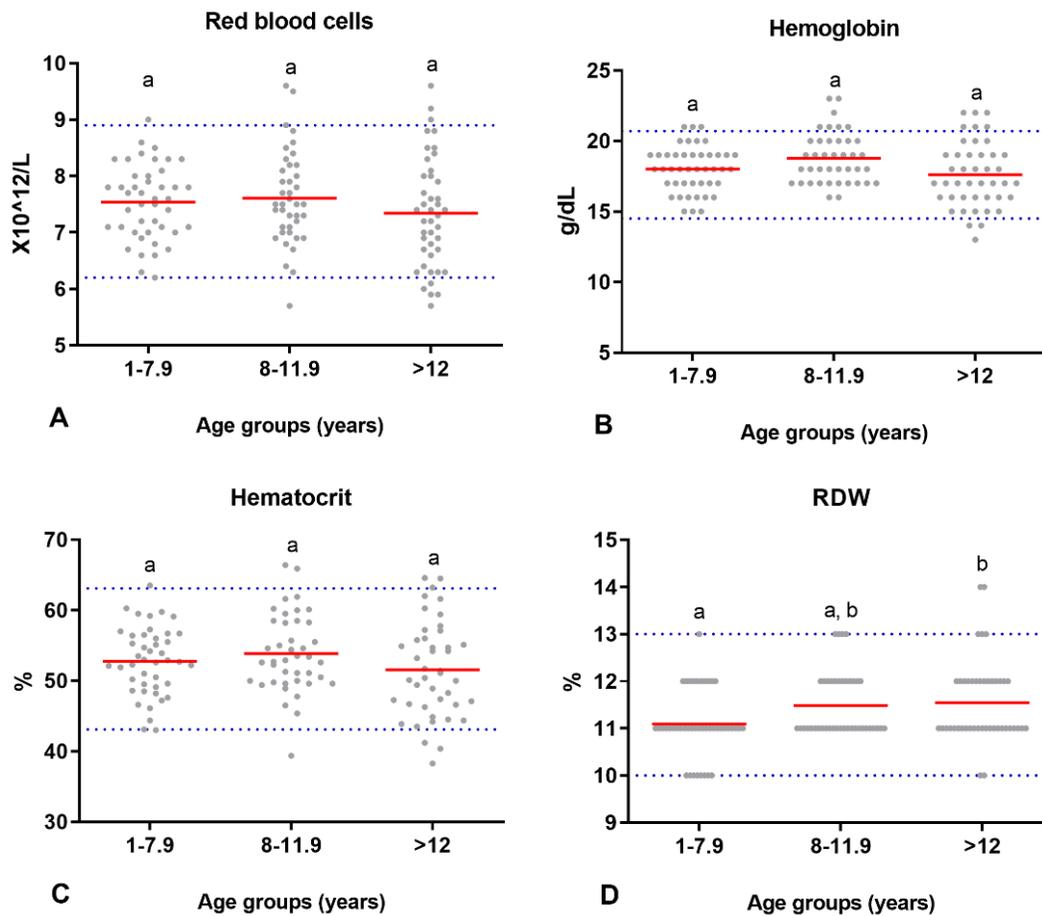


Figura 25. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.

Comparación de las medias (línea roja) de (A) glóbulos rojos, (B) hemoglobina, (C) hematocrito y (D) RDW entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

La distribución de la amplitud de distribución eritrocitaria (RDW-CV) no fue normal (p 0,007) y las varianzas fueron iguales (p 0,393). Se observó un efecto significativo estadísticamente de la edad (figura 25-D) sobre el RDW-CV (p 0,043). La RDW-CV en perros adultos (M 11,059 %, SD 0,674) fue significativamente menor que en perros geriatras (M 11,536 %, SD 0,800; p 0,044). También se identificó un efecto significativo del tamaño corporal (p 0,016). En la figura 29- A se muestra que la RDW-CV en perros de tamaño corporal pequeño (M 11,197 %, SD 0,716) fue significativamente menor que en perros de tamaño corporal grande (M 11,622 %, SD 0,633; p 0,012). No se observó un efecto significativo del sexo (p 0,478) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,740).

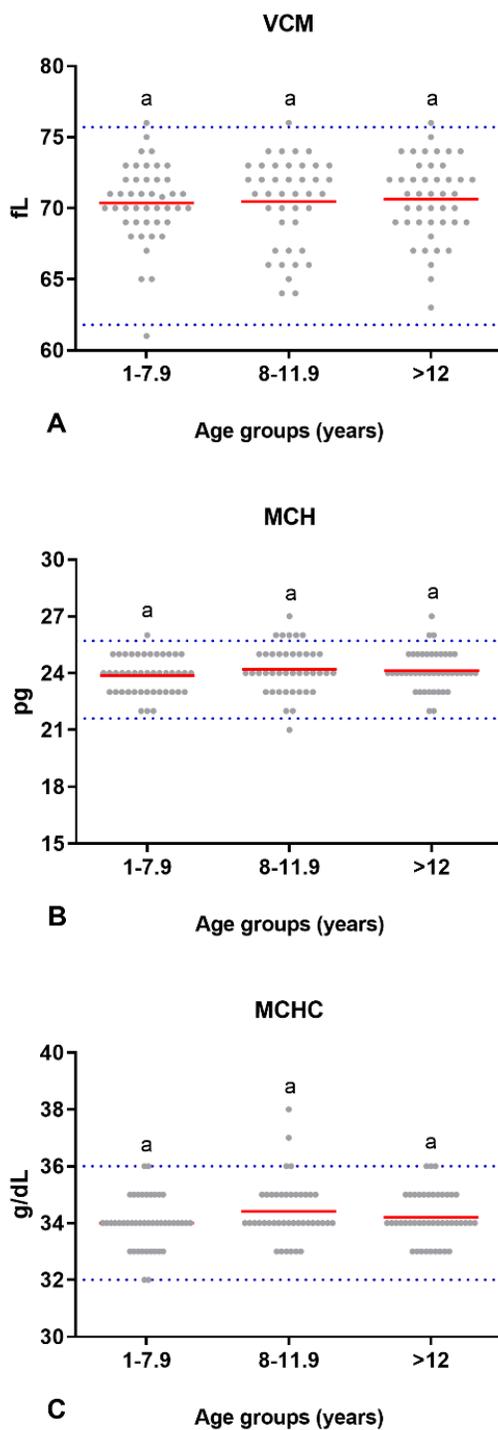


Figura 26. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.

Comparación de las medias (línea roja) de (A) VCM, (B) MCH y (C) MCHC entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

5.3.2. Serie blanca (GB, LYM, MID, GRAN relativos y absolutos).

La distribución de los glóbulos blancos (GB) no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,762$). Se observó un efecto significativo de la edad ($p 0,028$) sobre los glóbulos blancos. En la figura 27-A se muestra que los glóbulos blancos en perros adultos ($M 10,498 \times 10^9/L$, $SD 3,435$) fueron significativamente mayores que los glóbulos blancos en perros geriatras ($M 9,181 \times 10^9/L$, $SD 2,783$; $p 0,024$). No se identificó un efecto del sexo ($p 0,298$), tamaño corporal ($p 0,725$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,383$) sobre los glóbulos blancos.

La distribución de los linfocitos relativos (%) fue normal ($p 0,383$) y las varianzas iguales ($p 0,299$). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad ($p 0,613$), sexo ($p 0,390$), tamaño corporal ($p 0,968$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,791$) sobre los linfocitos relativos. La distribución de los monocitos relativos (%) fue normal ($p 0,053$), las varianzas fueron iguales ($p 0,389$). No se observó un efecto significativo de la edad ($p 0,185$), tamaño corporal ($p 0,533$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,393$) sobre los monocitos. El sexo mostró un efecto significativo ($p 0,000$) sobre los monocitos relativos. Los monocitos en hembras ($M 6,293 \%$; $SD 1,241$) fueron significativamente menor que los monocitos en machos ($M 7,200 \%$; $SD 1,353$; $p 0,000$). La distribución de los granulocitos relativos (%) fue normal ($p 0,584$) y las varianzas iguales ($p 0,575$). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad ($p 0,775$), sexo ($p 0,100$), tamaño corporal ($p 0,937$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,880$) sobre los granulocitos relativos (tabla 4).

La distribución de los linfocitos absolutos no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,355$). No se identificó un efecto significativo de la edad ($p 0,050$), sexo ($p 0,807$), tamaño corporal ($p 0,849$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,748$) sobre los linfocitos absolutos (figura 27-B). La distribución de los monocitos absolutos no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,638$). No se mostró un efecto significativo de la edad ($p 0,269$), sexo ($p 0,548$), tamaño corporal ($p 0,613$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,935$) sobre los monocitos absolutos (figura 27-C). La distribución de los granulocitos absolutos no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,826$). Se observó un efecto significativamente estadístico de la edad (figura 27-D) sobre los granulocitos absolutos ($p 0,018$). Los granulocitos en perros adultos ($M 6,83 \times 10^9/L$, $SD 1,96$) fueron significativamente mayores que los granulocitos en perros geriatras ($M 5,91 \times 10^9/L$, $SD 1,71$; $p 0,013$). No se

observó un efecto del sexo (p 0,110), tamaño corporal (p 0,783) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,139).

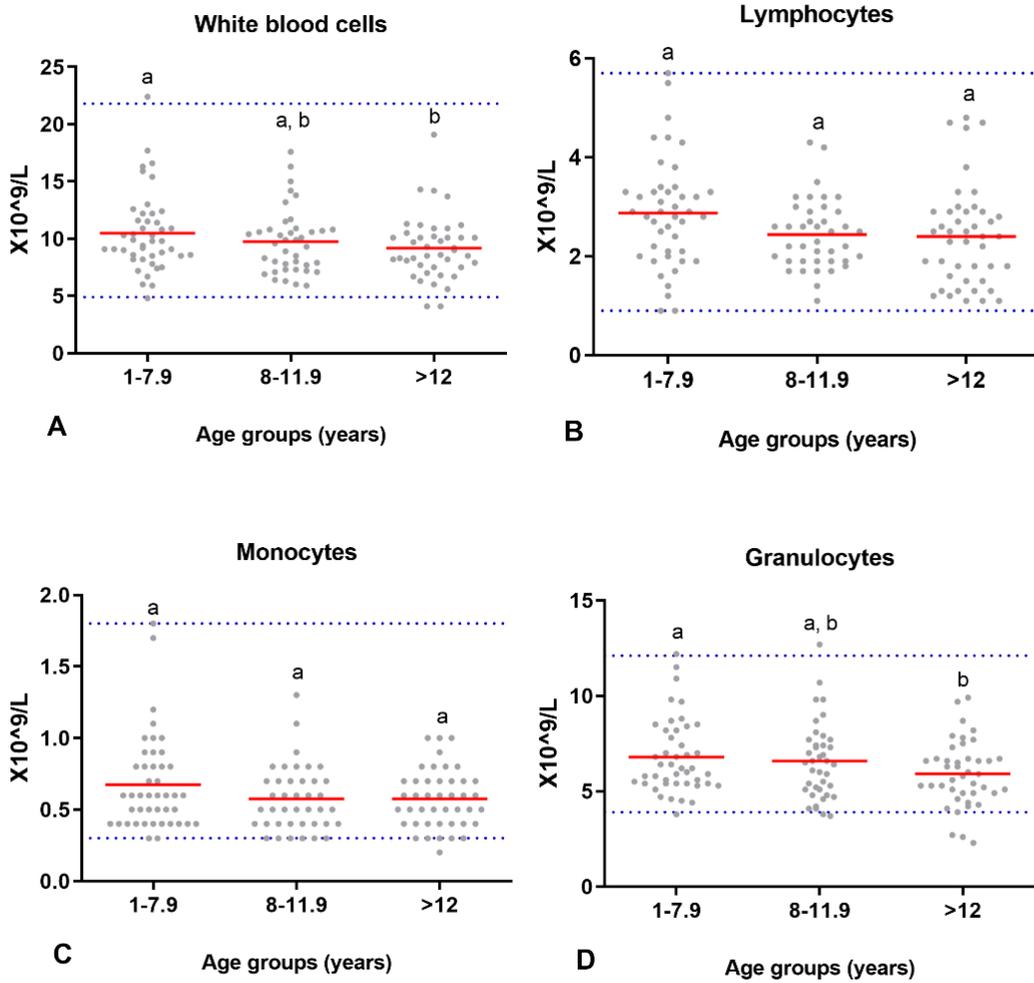


Figura 27. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro. Comparación de las medias (línea roja) de (A) glóbulos blancos, (B) linfocitos, (C) monocitos y (D) granulocitos entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

5.3.3. Plaquetas (PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR y PLCC).

La distribución de las plaquetas (PLQ) no fue normal (p 0,008) y las varianzas iguales (p 0,162). Se mostro un efecto significativo de la edad (figura 28-A) sobre las plaquetas (p 0,001). Las plaquetas en perros adultos (M 229 $\times 10^9/L$, SD 88) fueron significativamente menores que en perros geriatras (M 316 $\times 10^9/L$, SD 127; p 0,001). También se identificó un efecto significativo del tamaño corporal (p 0,000). En la figura 29-B se observa que las plaquetas en perros de tamaño pequeño (M 320 $\times 10^9/L$, SD 110) fueron significativamente mayores que en perros de tamaño grande (M 212 $\times 10^9/L$, SD 81; p 0,000). No encontramos un efecto significativo del sexo (p 0,244) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,947) sobre las plaquetas.

La distribución del volumen medio plaquetario (MPV) fue normal (p 0,485) y las varianzas iguales (p 0,979). Se observo un efecto significativo de la edad (figura 28-B) sobre el MPV (p 0,005). El MPV en perros adultos (M 9,650 fL, SD 1,130) fue significativamente mayor que en perros senior (M 8,992 fL, SD 1,161; p 0,008) y geriatras (M 9,032 fL, SD 1,076; p 0,028). No se observó un efecto del sexo (p 0,051), tamaño corporal (p 0,641) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,950) sobre el MPV.

La distribución de los datos de la amplitud de distribución plaquetaria (PDW) no fue normal (p 0,047) y las varianzas iguales (p 0,885). Se observo un efecto significativamente estadístico de la edad (figura 28-C) sobre PDW (p 0,007). El PDW en perros adultos (M 13,89 fL, SD 2,34) fue significativamente mayor que en perros senior (M 13,01 fL, SD 2,51; p 0,044) y geriatras (M 12,58 fL, SD 1,79; p 0,009). No hubo un efecto del sexo (p 0,229), tamaño corporal (p 0,417) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,595) sobre el PDW.

La distribución de los datos del plaquetocrito (PCT) fueron normales (p 0,844) y las varianzas no fueron iguales (p 0,037). Se observo un efecto significativo de la edad (figura 28-D) sobre PCT (p 0,039). El PCT en perros adultos (M 0,22 %, SD 0,09) es significativamente menor que en perros geriatras (M 0,27 %, SD 0,11; p 0,029). También se mostró un efecto del tamaño corporal sobre el PCT (p 0,000). En la figura 29-C se muestra que el PCT en perros de tamaño corporal pequeño (M 0,28 %, SD 0,09; p 0,000) y tamaño corporal mediana (M 0,025 %, SD 0,11; p 0,018) fue significativamente mayor que en perros de tamaño corporal grande (M 0,18 %, SD 0,07). No se observó un efecto significativo del sexo (p 0,156) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,939).

La distribución de los datos del cociente plaquetas-células grandes (P-LCR) fueron normales (p 0,252) y las varianzas iguales (p 0,748). Se encontró un efecto significativo de la edad (figura 28-E) sobre P-LCR (p 0,007). El P-LCR en perros adultos (M 19,50 %, SD 7,48) es significativamente mayor que en perros senior (M 15,47 %, SD 7,36; p 0,010) y geriatras (M 15,80 %, SD 6,10; p 0,043). También se observó un efecto significativo del sexo (p 0,047). En la figura 29-D se muestra que el P-LCR en hembras (M 17,43 %, SD 7,30) fue significativamente mayor que en machos (M 16,40, SD 7,061; p 0,047). No hubo un efecto significativo del tamaño corporal (p 0,658) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,971).

La distribución de los datos del recuento de plaquetas-células grandes (P-LCC) fue normal (p 0,125) y las varianzas iguales (p 0,400). No hubo un efecto de la edad (p 0,344) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,912) sobre P-LCC (figura 28-F). Se observó un efecto significativo del sexo (p 0,008). En la figura 29-E se observa que el P-LCC en hembras (M 47,62 $\times 10^9/L$, SD 20,47) fue significativamente mayor que en machos (M 36,84 $\times 10^9/L$, SD 17,18; p 0,008). También se observó un efecto del tamaño corporal (p 0,001) que se muestra en la figura 29-F. El P-LCC en perros de tamaño pequeño (M 48,12 $\times 10^9/L$, SD 18,65; p 0,000) fue significativamente mayor que en perros de tamaño grande (M 32,75 $\times 10^9/L$, SD 13,79).

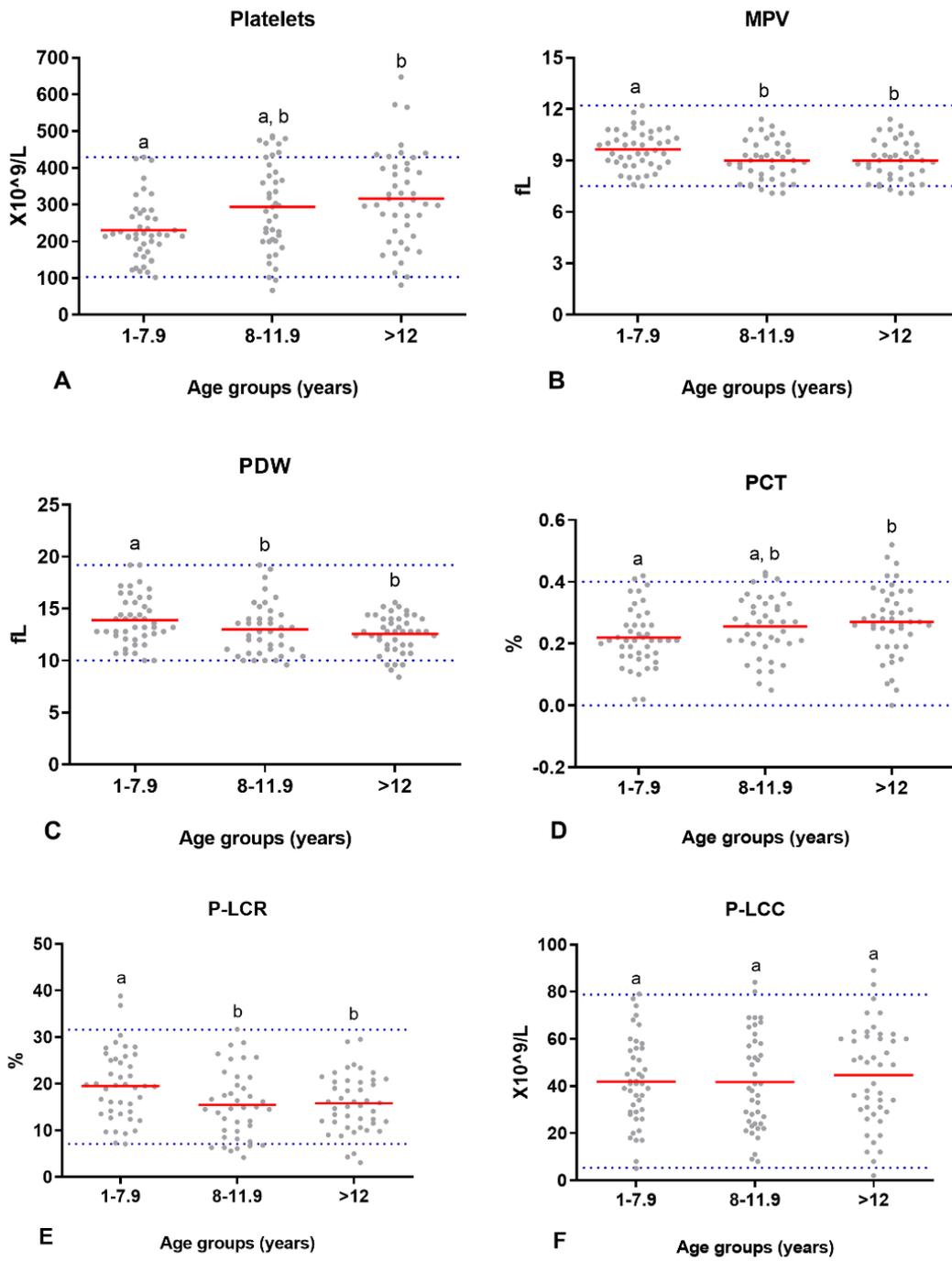


Figura 28. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida del perro.

Comparación de las medias (línea roja) de (A) plaquetas, (B) MPV, (C) PDW, (D) PCT, (E) P-LCR y (F) P-LCC entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

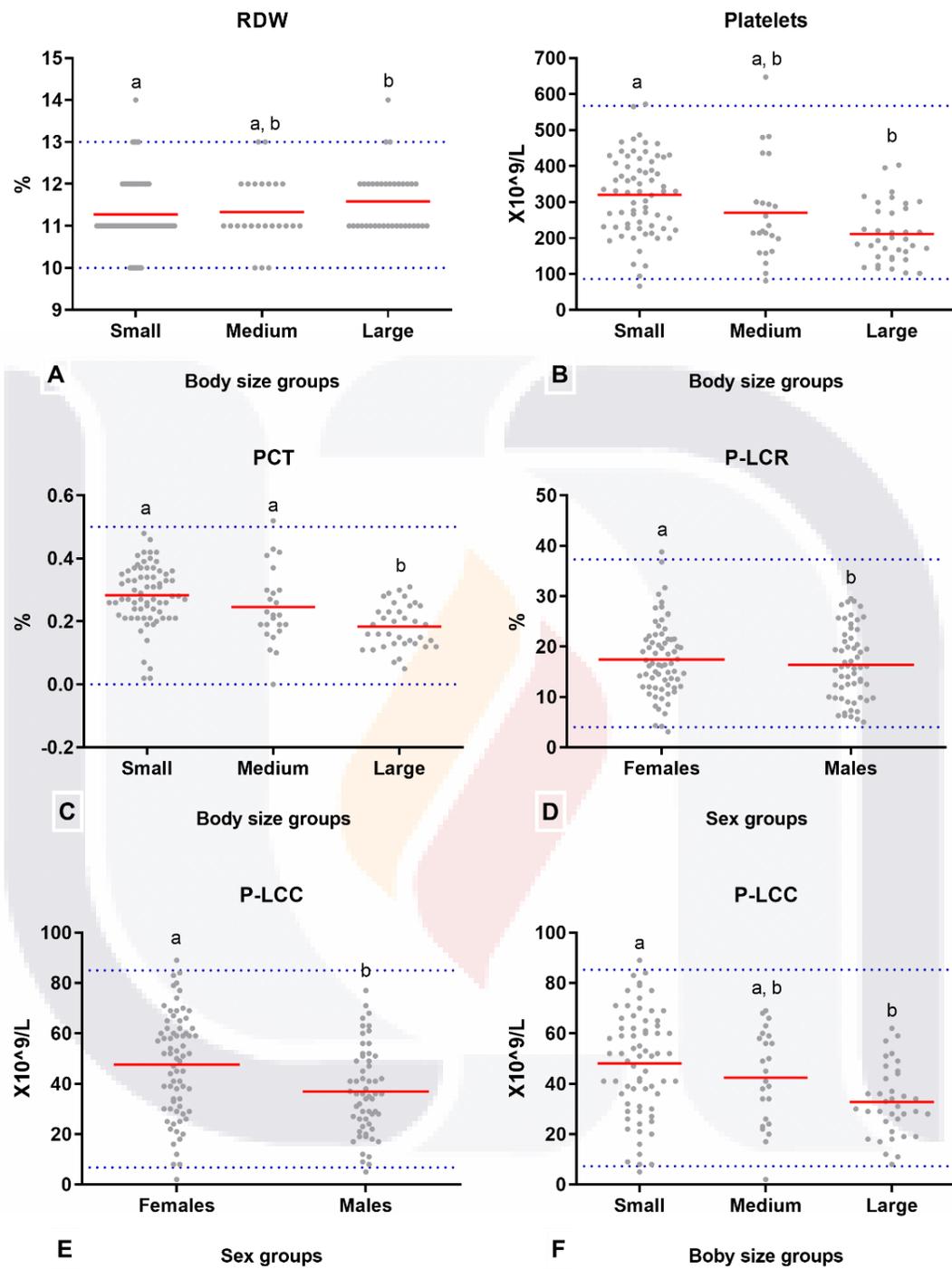


Figura 29. Efecto del sexo y del tamaño corporal sobre algunos componentes hematológicos. Comparación de las medias (línea roja) de (A) RDW, (B) plaquetas, (C) PCT, (D) P-LCR, (E) P-LCC (efecto del sexo) y (F) P-LCC entre grupos de perros clínicamente sanos. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

Tabla 4. Intervalos de referencia de los componentes hematológicos según la etapa de vida del perro (adultos, senior y geriatras).

Variables	AD	Adultos 1 – 7.9 años n 44		Senior 8-11.9 años n 41		Geriatras < 12 años n 44		Valor p
		Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	
		Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	
GB (x10⁹/L)	NG	10.4 (3.4) ^a	4.9 (4.8-6.1)	9.7 (2.8) ^{a, b}	5.9 (5.9-6.3)	8.9 (2.3) ^b	4.1 (4.1-6)	0.028
		9.8 (3.5)	21.8 (16.5-22.4)	9.7 (3.4)	17.6 (15-17.6)	8.6 (2.6)	14.3 (13.6-14.3)	
LYM (%)	G	26.9 (6.8) ^a	11.1 (10.9-13.9)	25.7 (4.6) ^a	15.1 (15.1-19.3)	25.9 (6.8) ^a	12.4 (12.2-14.6)	0.613
		27.0 (9.8)	39.9 (36.2-40.1)	25.4 (6.1)	34.5 (32.2-34.5)	25.9 (8.8)	41.9 (38.1-42)	
MID (%)	G	6.5 (1.2) ^a	3.9 (3.9-4.8)	6.6 (1.4) ^a	3.4 (3.4-4.6)	6.9 (1.3) ^a	4.3 (4.3-4.6)	0.185
		6.4 (1.6)	8.7 (8.4-8.7)	6.7 (2.0)	9.6 (9.0-9.6)	7.0 (2.3)	9.4 (8.8-9.4)	
GRAN (%)	G	65.8 (6.9) ^a	53.8 (53.8-54.5)	67.5 (4.8) ^a	59.7 (59.7-60.8)	66.1 (7.1) ^a	49.9 (49.7-56.2)	0.775
		66.5 (9.3)	80.7 (78.2-80.9)	67.0 (7.2)	79.3 (76.1-79.3)	66.2 (9.8)	81.0 (77.3-81.3)	
LYM (x10⁹/L)	NG	2.8 (1.0) ^a	0.9 (0.9-1.3)	2.4(0.6) ^a	1.1 (1.1-1.7)	2.4 (1.0) ^a	1.1 (1.1-1.1)	0.50
		2.8 (1.2)	5.7 (4.8-5.7)	2.4 (1.0)	4.3 (3.5-4.3)	2.4 (1.3)	4.8 (4.6-4.8)	
MID (x10⁹/L)	NG	0.6 (0.3) ^a	0.3 (0.3-0.4)	0.5 (0.2) ^a	0.3 (0.3-0.3)	0.5 (0.2) ^a	0.2 (0.2-0.3)	0.269
		0.6(0.4)	1.8 (1.2-1.8)	0.5 (0.3)	1.3 (0.9-1.3)	0.6 (0.3)	1.0 (1.0-1.0)	
GRAN (x10⁹/L)	NG	6.8 (1.9) ^a	3.9 (3.8-4.6)	6.5 (2.0) ^{a, b}	3.5 (3.2-4.1)	5.9 (1.7) ^b	2.3 (2.3-2.8)	0.018
		6.2 (2.8)	12.1 (10.8-12.2)	6.5 (2.6)	12.1 (10.4-14)	5.8 (1.8)	9.9 (8.6-9.9)	
GR (x10¹²/L)	G	7.5 (0.6) ^a	6.2 (6.2-6.6)	7.6 (0.8) ^a	5.7 (5.7-6.7)	7.3 (0.9) ^a	5.7 (5.7-5.9)	0.710
		7.6 (0.9)	8.9 (8.5-9.0)	7.5 (1.1)	9.6 (8.9-9.6)	7.2 (1.3)	9.6 (8.9-9.6)	
HGB (g/dL)	G	17.9 (1.6) ^a	14.5 (14.5-15.3)	18.6 (1.8) ^a	15.8 (15.8-16.6)	17.6 (2.2) ^a	13.1 (13.1-14.2)	0.400
		18.0 (2.5)	20.7 (20.7-20.7)	18.4 (2.8)	22.7 (22-22.7)	17.4 (3.3)	22.4 (21.7-22.4)	
HCT (%)	G	52.8 (4.7) ^a	43.1 (43.1-44.8)	53.8 (5.5) ^a	39.7 (39.4-47.7)	51.5 (6.7) ^a	38.5 (38.3-41.5)	0.690
		52.8 (7.2)	63.1 (59.7-63.5)	52.9 (8.5)	66.4 (61.8-66.4)	51.1 (9.4)	64.6 (62.8-64.6)	

AD = Prueba de normalidad Anderson-Darling; CI = Intervalo de confianza; G = Gaussiana; GB = Glóbulos blancos; GR = Glóbulos rojos; GRAN = Granulocitos; HCT: Hematocrito; HGB = Hemoglobina; IQR = rango intercuartílico; LL: Límite inferior del intervalo de referencia; LYM = Linfocitos; MID = Monocitos; UL: Límite superior del intervalo de referencia; NG = No Gaussiana; SD = Desviación estándar. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) $p < 0.05$

Tabla 4 (Continuación). Intervalos de referencia de los componentes hematológicos según la etapa de vida del perro (adultos, senior y geriatras).

Variables	AD	Adultos 1 – 7.9 años n 44		Senior 8-11.9 años n 41		Geriatras < 12 años n 44		Valor p
		Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	
		Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	
VCM (fL)	NG	70.3 (2.6) ^a	61.8 (61.4-65.6)	70.4 (3.1) ^a	63.7 (63.7-65.7)	70.5 (2.8) ^a	62.9 (62.6-66.6)	0.811
		70.3 (3.1)	75.7 (73.8-75.9)	71.2 (4.8)	75.6 (74.2-75.7)	70.5 (3.8)	76.2 (74.4-76.4)	
MCH (pg)	G	23.8 (0.9) ^a	21.6 (21.5-22.1)	24.1 (1.2) ^a	21.1 (21-22.5)	24.0(0.9) ^a	21.7 (21.6-22.6)	0.482
		23.8 (1.5)	25.7 (25.3-25.7)	24.2 (2.1)	26.7 (26.1-26.7)	23.9 (1.2)	26.4 (25.5-26.5)	
MCHC (g/dL)	NG	33.9 (0.7) ^a	32.4 (32.4-32.7)	34.3 (1.0) ^a	32.8 (32.8-33.3)	34.1 (0.7) ^a	32.6 (32.6-33)	0.212
		34 (1.0)	35.9 (35.1-35.9)	34.1 (1.2)	38.1 (36.3-38.2)	34.2 (0.9)	35.7 (35.5-35.7)	
RDW-CV (%)	NG	11.0 (0.6) ^a	9.8 (9.8-10)	11.3 (0.6) ^{a, b}	10.5 (10.5-10.7)	11.5 (0.8) ^b	10.2 (10.2-10.5)	0.043
		11.2 (1.0)	12.7 (12.1-12.7)	11.2 (0.9)	13.0 (12.6-13.0)	11.3 (1.0)	13.7 (13.1-13.7)	
RDW-SD (fL)	NG	41.9 (1.3) ^a	39.2 (39.2-40.0)	42.2 (1.4) ^a	39.2 (39.2-40)	42.4 (1.6) ^a	39.2 (39.2-39.4)	0.473
		41.7 (1.7)	44.2 (44.4-44.2)	42.5 (1.7)	45.1 (44.2-45.1)	42.5 (1.7)	45.8 (45.0-45.9)	
PLQ (x10⁹/L)	NG	229 (83.8) ^a	103 (102-119)	294 (121.9) ^{a, b}	67 (66-123)	316 (126.8) ^b	84 (81-121)	0.001
		216 (100.3)	429 (414-429)	294 (198)	487 (479-487)	307 (184.3)	637 (550-647)	
MPV (fL)	G	9.7 (1.1) ^a	7.5 (7.5-8.0)	9.0 (1.2) ^b	7.1 (7.1-7.3)	9.0 (1.1) ^b	6.3 (6.2-7.4)	0.005
		9.8 (1.7)	12.2 (11.2-12.2)	9.0 (1.9)	11.4 (10.8-11.4)	9.0 (1.6)	11.2 (10.6-11.2)	
PDW (fL)	NG	13.9 (2.3) ^a	10.0 (10-10.7)	13.0 (2.5) ^b	9.6 (9.6-10.0)	12.6 (1.8) ^b	8.5 (8.4-9.6)	0.007
		13.4 (3.2)	19.2 (17.6-19,2)	12.8 (3.5)	19.2 (18-19.2)	12.8 (2.5)	15.6 (15.1-15.6)	
PCT (%)	G	0.22 (0.09) ^a	0.0 (0.0-0.1)	0.26 (0.09) ^{a, b}	0.1 (0.1-0.1)	0.27 (0.11) ^b	0.0 (0.0-0.1)	0.039
		0.21 (0.10)	0.4 (0.4-0.4)	0.27 (0.13)	0.4 (0.4-0.4)	0.27 (0.16)	0.5 (0.5-0.5)	
PLCR (%)	G	19.5 (7.5) ^a	7.1 (7.1-9.4)	15.5 (7.4) ^b	4.2 (4.2-6.3)	15.8 (6.1) ^b	3.3 (3.1-5.6)	0.007
		19.5 (11.7)	38.6 (30.1-38.8)	14.8 (12.2)	31.6 (28.3-31.7)	15.6 (9.1)	29.4 (24.0-29.5)	
PLCC (x10⁹/L)	G	41.9 (18.1) ^a	5.4 (5.0-17.1)	41.7 (20.3) ^a	8.1 (8.0-17.7)	44.7 (21.0) ^a	2.8 (2.0-12.5)	0.344
		41.0 (26.8)	78.8 (73.3-79.0)	39.0 (34.5)	83.8 (69.0-84.0)	49.0 (31.5)	88.3 (76.3-89.0)	

MCH = Concentración media de hemoglobina; MCHC = Concentración media de hemoglobina corpuscular; MPV = Volumen plaquetario medio; PCT = Plaquetocrito; PDW = Ancho de distribución plaquetario; PLCC= Recuento de plaquetas-células grandes; PLCR = Cociente plaquetas-células grandes; PLQ = Plaquetas; RDW = Amplitud de distribución eritrocitaria; VCM = Volumen corpuscular medio eritrocitario. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) $p < 0.05$

5.4. MICROSCOPIA ÓPTICA.

5.4.1. Serie roja (tamaño, color, forma, distribución, cuerpos de inclusión y parásitos eritrocitarios).

En la evaluación con respecto a la morfología de los eritrocitos, se registró anisocitosis (variación del tamaño) en el 88% de las muestras (figura 30), policromasia (eritrocitos policromatófilos) y poiquilocitosis (forma anormal). Se clasificaron específicamente las formas anormales de eritrocitos.

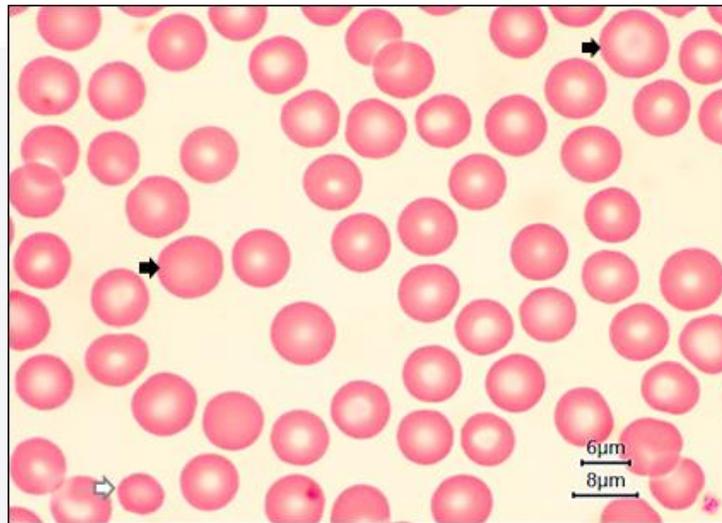


Figura 30. Micrografía óptica de frotis sanguíneo de perros sanos a 100x.

Se muestra la presencia de glóbulos rojos de anisocitosis (variación del tamaño) y se observa un microcito en la esquina inferior izquierda (flecha blanca) y macrocitos (flechas negras). Barra de escala = 7 μm y 8 μm.

Se identificó una presencia de policromasia (figura 31-A) en perros geriátricos, acompañado de macrocitos (figura 30) y eritroblastos (figura 31-B). Mientras que, en la poiquilocitosis, la presencia de formas de eritrocitos anormales era indistinta. Con respecto a los cambios morfológicos no específicos se identificaron equinocitos, acantocitos y dianocitos. Mientras que en los cambios específicos (aquellos que aparecen cuando hay un proceso patológico) se observaron esferocitos, dacriocitos, estomatocitos, leptocitos y células en forma de cruz o quatrefoil. Sin embargo, se observaron tres formas de eritrocitos anormales con mayor frecuencia descritas en la tabla 5: acantocitos (77%), codocitos (36%) y dacriocitos (34%).

Tabla 5. Análisis de frecuencia de las variables evaluadas en el frotis de sangre de una población de perros ($n= 129$) de diferentes edades: adultos ($n=44$), adultos mayores ($n=41$) y geriátricos ($n=44$).

Variable	Hallazgo	Grupo	Frecuencia absoluta f_i	Frecuencia acumulada fa_i	Frecuencia relativa fr_i	Frecuencia relativa acumulada fra_i	Frecuencia porcentual fp_i	Frecuencia porcentual acumulada fpa_i	
Tamaño	Anisocitosis	Adultos	37	37	0,29	0,29	29%	29%	
		Senior	34	71	0,26	0,55	26%	55%	
		Geriatras	43	114	0,33	0,88	33%	88%	
	Macrocitosis	Adultos	2	2	0,02	0,02	2%	2%	
		Senior	5	7	0,04	0,05	4%	5%	
		Geriatras	8	15	0,06	0,12	6%	12%	
	Microcitosis	Adultos	1	1	0,01	0,01	1%	1%	
		Senior	1	2	0,01	0,02	1%	2%	
		Geriatras	1	3	0,01	0,02	1%	2%	
Color	Policromatofilia	Adultos	2	2	0,02	0,02	2%	2%	
		Senior	8	10	0,06	0,08	6%	8%	
		Geriatras	11	21	0,09	0,16	9%	16%	
Forma	Equinocitos	Adultos	11	11	0,09	0,09	9%	9%	
		Senior	10	21	0,08	0,16	8%	16%	
		Geriatras	12	33	0,09	0,26	9%	26%	
	Acantocitos	Adultos	32	32	0,25	0,25	25%	25%	
		Senior	32	64	0,25	0,50	25%	50%	
		Geriatras	35	99	0,27	0,77	27%	77%	
	Codocitos	Adultos	18	18	0,14	0,14	14%	14%	
		Senior	16	34	0,12	0,26	12%	26%	
		Geriatras	13	47	0,10	0,36	10%	36%	
	Esferocitos	Adultos	5	5	0,04	0,04	4%	4%	
		Senior	1	6	0,01	0,05	1%	5%	
		Geriatras	8	14	0,06	0,11	6%	11%	
	Estomatocitos	Adultos	1	1	0,01	0,01	1%	1%	
		Senior	1	2	0,01	0,02	1%	2%	
		Geriatras	1	3	0,01	0,02	1%	2%	
	Dacriocitos	Adultos	14	14	0,11	0,11	11%	11%	
		Senior	14	28	0,11	0,22	11%	22%	
		Geriatras	15	43	0,12	0,33	12%	33%	
	Quatrefoil	Adultos	6	6	0,05	0,05	5%	5%	
		Senior	3	9	0,02	0,07	2%	7%	
		Geriatras	4	13	0,03	0,10	3%	10%	
	Leptocitos	Adultos	1	1	0,01	0,01	1%	1%	
		Senior	1	2	0,01	0,02	1%	2%	
		Geriatras	1	3	0,01	0,02	1%	2%	
	Cuerpos de inclusión	Eritroblastos	Adultos	1	1	0,01	0,01	1%	1%
			Senior	4	5	0,03	0,04	3%	4%
			Geriatras	4	9	0,03	0,07	3%	7%

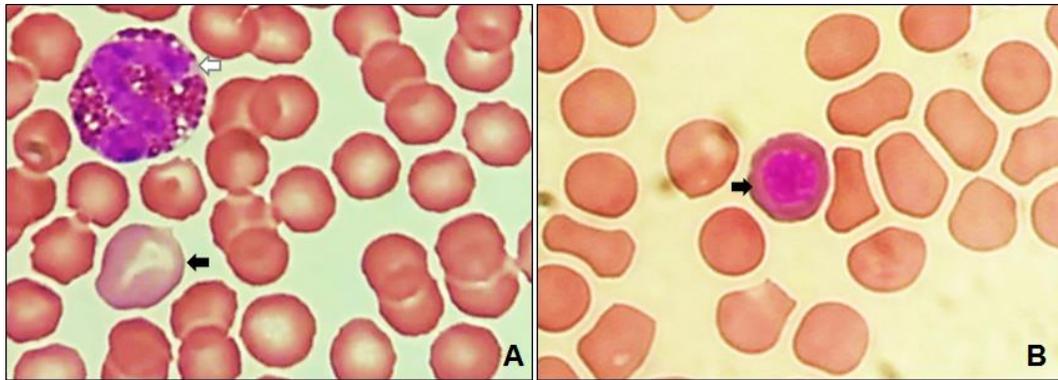


Figura 31. Micrografías ópticas a 100x de perros senior y geriatras.

(A) Los eritrocitos policromatófilos tienen un citoplasma azulado y son más grandes que un glóbulo rojo normal (flecha negra). Eosinófilo (flecha blanca). (B) Los eritroblastos son células precursoras nucleadas de eritrocitos (flecha negra).

Los equinocitos se muestran en la figura 32-A, con pequeñas espículas espaciadas uniformemente en su superficie, este detalle diferencia a los equinocitos de los acantocitos (figuras 32-B y 32-C) que tienen proyecciones irregulares. En la figura 32-C se observan eritrocitos en forma de diana (codocitos) y la figura 32-D muestra pequeños eritrocitos, sin palidez central y tinción densa (esferocitos).

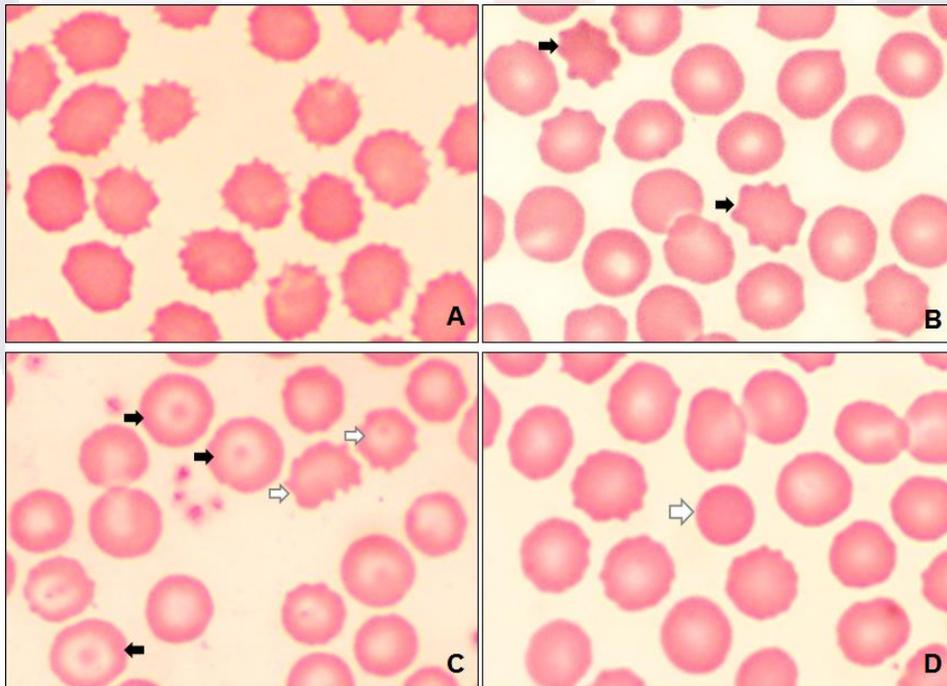


Figura 32. Micrografías ópticas a 100 x de perros sanos, que muestran la poiquilocitosis (formas anormales de eritrocitos).

(A) Equinocitos. (B) Acanthocitos (flechas negras). (C) Codocitos o células diana (flechas negras) y acantocitos (flechas blancas). (D) Esferocitos (flecha blanca).

Los eritrocitos en forma de lágrima o dacriocitos se observan en la figura 33-A. Los eritrocitos con palidez central ovalada o alargada que se describen como estomatocitos se muestran en la figura 33-B. También se identificaron eritrocitos quatrefoil, células en forma de cruz (figura 33-C) y en la figura 30-D se señalan los glóbulos rojos alargados o elípticos (leptocitos). Los cuerpos de inclusión indicativos de eritropoyesis como los eritroblastos se detectaron en el 7% de las muestras analizadas (figura 31-B). No se observaron anomalías de distribución (pseudofenómeno rouleaux) ni se encontraron parásitos de eritrocitos.

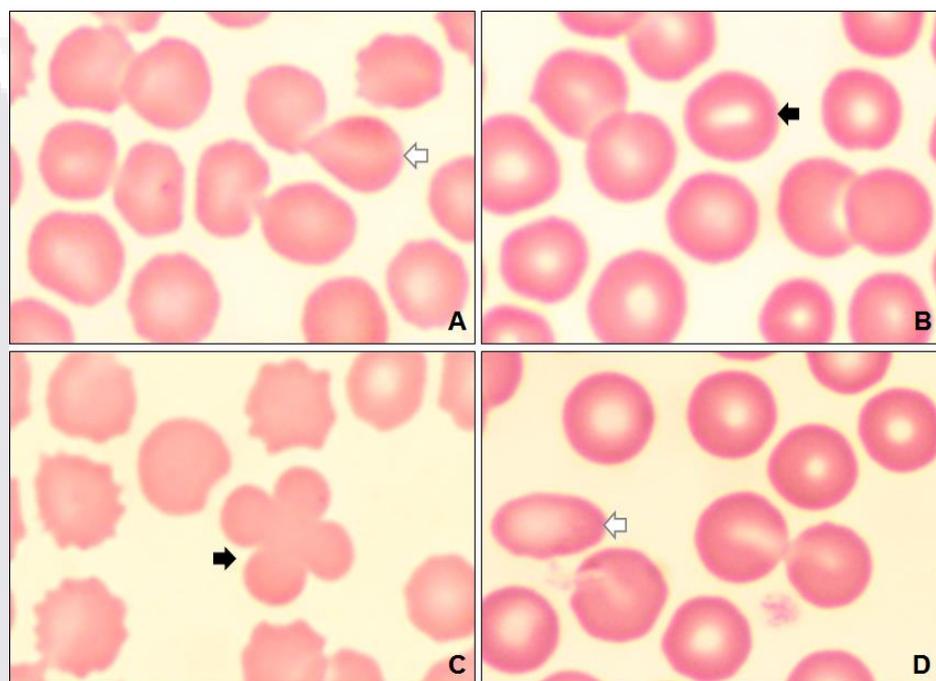


Figura 33. Micrografías ópticas a 100 x de perros sanos, que muestran la poiquilocitosis (formas anormales de eritrocitos).
 (A) Dacriocitos (flecha blanca). (B) Estomatocitos (flecha negra). (C) Eritrocito en forma de cruz o quatrefoil (flecha negra). (D) Leptocitos (flecha blanca).

5.4.2. Serie blanca (leucocitos, diferencial, morfología).

En la tabla 6 se muestran los valores obtenidos del diferencial realizado a partir de los frotis sanguíneos en las diferentes etapas de vida del perro (adultos, senior y geriatras). La distribución de la estimación del número total de leucocitos no es normal ($p < 0,005$), las varianzas no son iguales ($p 0,034$). Se observó un efecto significativo de la edad ($p 0,000$) sobre los leucocitos. En la figura 34-A se muestra que los leucocitos en perros adultos ($M 8240/mm^3$, $SD 1813$; $p 0,000$) y en perros senior ($M 7515/mm^3$, $SD 1331$; $p 0,022$) fueron significativamente mayores que los leucocitos en perros geriatras (M

6829/mm³, *SD* 1187). No se identificó un efecto del sexo (p 0,563), tamaño corporal (p 0,535) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,294) sobre la estimación de los leucocitos.

La distribución de los linfocitos relativos (%) fue normal (p 0,064) y las varianzas iguales (p 0,266). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad (p 0,649), sexo (p 0,316), tamaño corporal (p 0,070) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,913) sobre los linfocitos relativos. La distribución de los monocitos relativos (%) fue anormal (p <0,005), las varianzas fueron iguales (p 0,463). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,053), sexo (p 0,161), tamaño corporal (p 0,758) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,619) sobre los monocitos. La distribución de los eosinófilos relativos (%) fue anormal (p <0,005) y las varianzas son iguales (p 0,458). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad (p 0,491), sexo (p 0,930), tamaño corporal (p 0,512) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,700) sobre los eosinófilos relativos. La distribución de los neutrófilos segmentados relativos (%) fue normal (p 0,787) y las varianzas son iguales (p 0,064). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad (p 0,931), sexo (p 0,206), tamaño corporal (p 0,291) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,941) sobre los neutrófilos segmentados relativos. La distribución de los neutrófilos en banda relativos (%) fue anormal (p <0,005) y las varianzas son iguales (p 0,343). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad (p 0,984), sexo (p 0,117), tamaño corporal (p 0,096) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,358) sobre los neutrófilos en banda relativos.

La distribución de los linfocitos absolutos no fue normal (p <0,005) y las varianzas fueron iguales (p 0,385). Se observó un efecto significativo de la edad (p 0,020) sobre los linfocitos absolutos. En la figura 34-B se muestra que los linfocitos absolutos en perros adultos (M 1990/mm³, *SD* 839) fueron significativamente mayores que los linfocitos en perros geriatras (M 1471/mm³, *SD* 631; p 0,017). No se identificó un efecto significativo del sexo (p 0,434), tamaño corporal (p 0,068) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,895) sobre los linfocitos absolutos. La distribución de los monocitos absolutos fue anormal (p <0,005) y las varianzas no fueron iguales (p 0,034). No se mostró un efecto significativo de la edad (p 0,155), sexo (p 0,063), tamaño corporal (p 0,546) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,550) sobre los monocitos absolutos. La distribución de los eosinófilos absolutos fue normal (p 0,077) y las varianzas

son iguales (p 0,468). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad (p 0,647), sexo (p 0,803), tamaño corporal (p 0,289) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,833) sobre los eosinófilos.

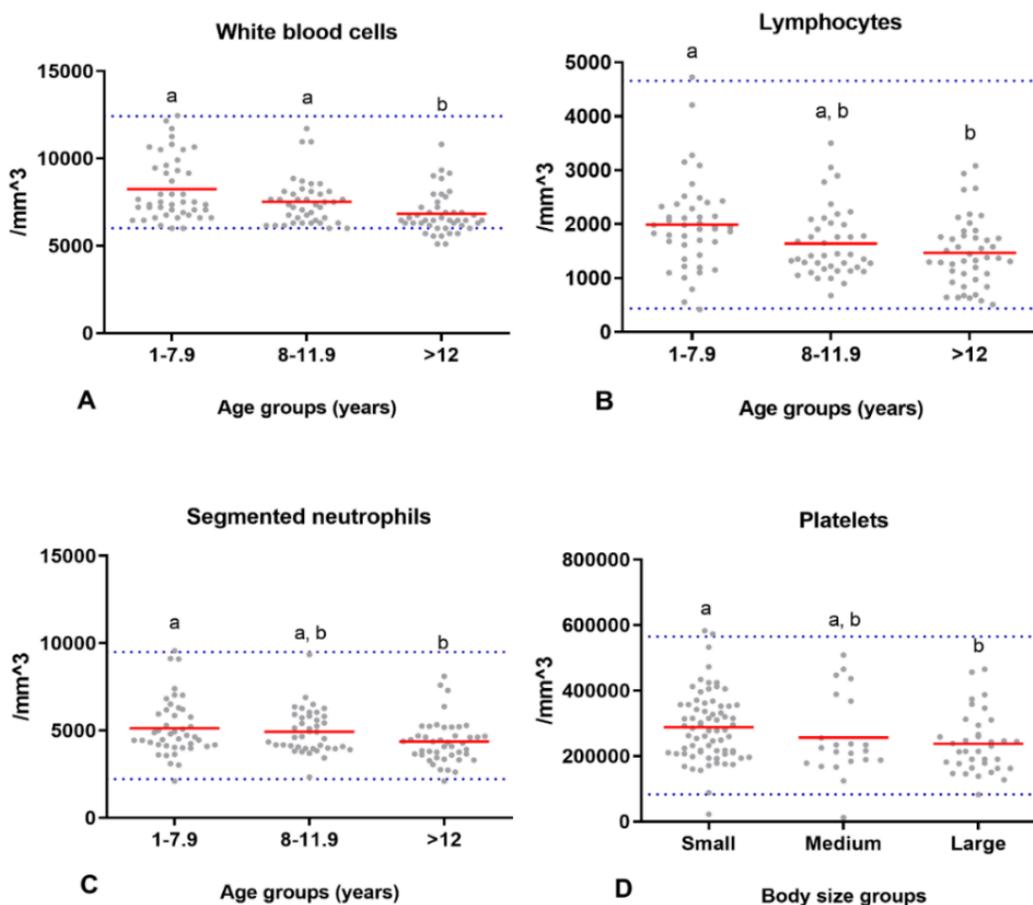


Figura 34. Componentes hematológicos en diferentes etapas de la vida y tamaño corporal del perro. Comparación de las medias (línea roja) de (A) glóbulos blancos, (B) linfocitos y (C) neutrófilos segmentados entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Comparación de las medias (línea roja) de (D) plaquetas entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes tallas: pequeña, mediana y grande. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

La distribución de los neutrófilos segmentados absolutos fue anormal ($p < 0,005$) y las varianzas son iguales (p 0,213). Se observó un efecto significativo de la edad (p 0,041) sobre los neutrófilos segmentados absolutos. En la figura 34-C se muestra que los neutrófilos segmentados absolutos en perros adultos (M 5133/mm³, SD 1609) fueron significativamente mayores que los valores en perros geriatras (M 4364/mm³, SD 1250; p 0,036). No se observó un efecto estadísticamente significativo del sexo (p 0,646), tamaño corporal (p 0,351) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,533) sobre los neutrófilos segmentados absolutos. La distribución de los neutrófilos en banda relativos

absolutos fue anormal ($p < 0,005$) y las varianzas iguales ($p 0,141$). No se observó un efecto estadísticamente significativo de la edad ($p 0,524$), sexo ($p 0,126$), tamaño corporal ($p 0,131$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,530$) sobre los neutrófilos en banda absolutos.

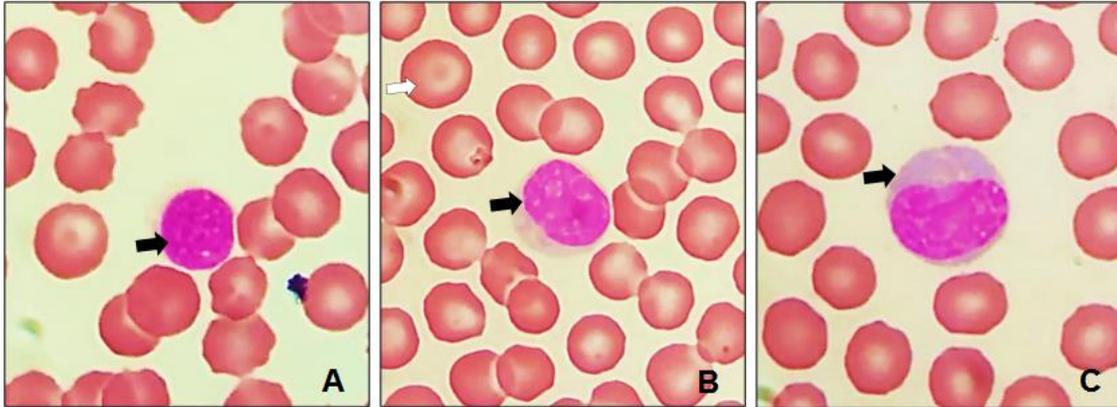


Figura 35. Morfología leucocitaria en perros sanos.

(A) Pequeño linfocito con su núcleo redondo fuertemente teñido (predominante). (B) Pequeña zona alargada y blanquecina, cercana al núcleo, típica de linfocitos (flecha negra), dianocito (flecha blanca). (C) Linfocito grande, con citoplasma más abundante (flecha negra) y cromatina nuclear menos densa. Microscopía óptica a 100x.

En la morfología leucocitaria no se observaron anomalías. En la figura 35-A muestra un linfocito pequeño, su núcleo puede ser redondo u ovalado, a veces ligeramente dentado, fuertemente teñido. Además, en la figura 35-B, el citoplasma de los linfocitos es escaso, de color azul claro. La figura 35-C muestra un linfocito grande, su citoplasma es más abundante en rangos de basofilia leve a moderada.

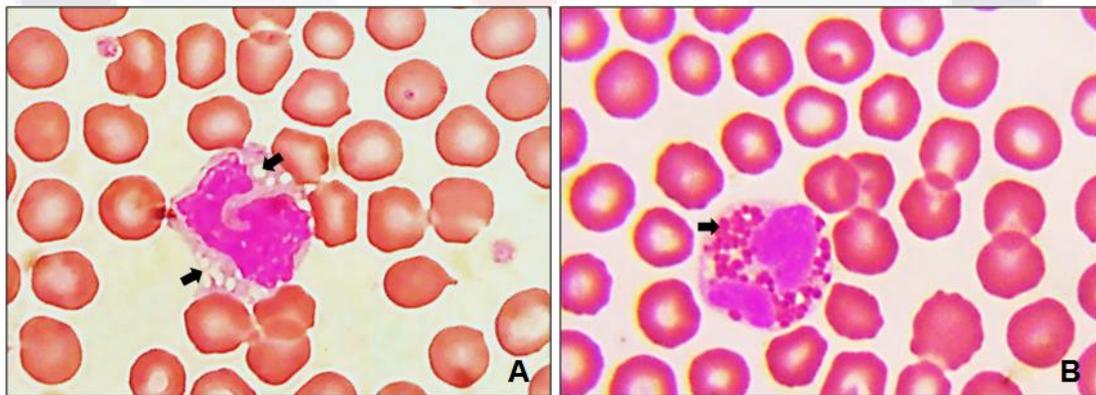


Figura 36. Morfología leucocitaria en perros sanos.

(A) Monocito con presencia de vacuolas en el citoplasma (flechas negras), microscopía óptica. (B) Eosinófilo con gránulos de color rojo anaranjado (flecha negra) y un núcleo segmentado. Microscopía óptica a 100x.

La figura 36-A muestra la morfología de un monocito con presencia de vacuolas y citoplasma gris azulado con un núcleo dentado. El núcleo de los monocitos varía mucho y puede tomar cualquier forma, desde redonda, dentada, enrollada o en forma de riñón. Es característica la presencia de vacuolas de tamaño variable en el citoplasma. Por otro lado, en la figura 36-B, se identifica un eosinófilo, que presenta gránulos de color rojo anaranjado que se distinguen en un citoplasma azul pálido.

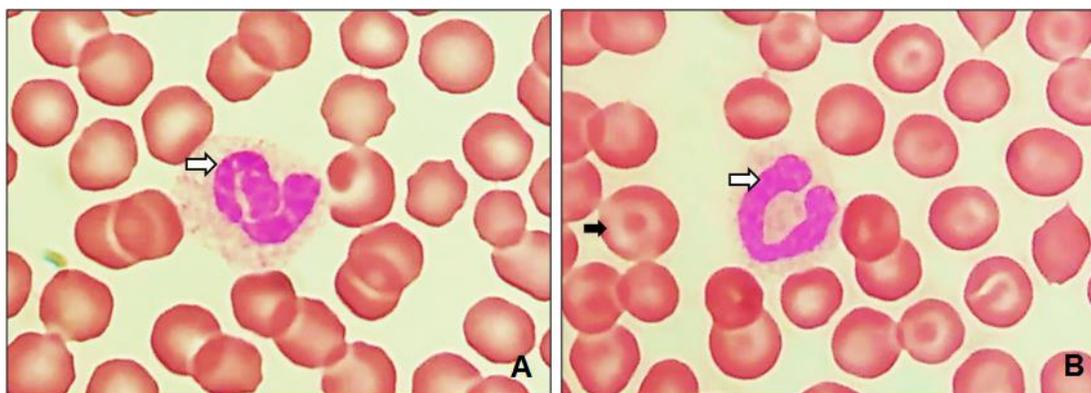


Figura 37. Morfología leucocitaria en perros sanos.
 (A) Neutrófilo segmentado con un núcleo alargado e irregularmente lobulado (más común), dianocito (flecha negra). (B) Banda de neutrófilos con núcleo curvo y leve estrangulación (flecha blanca). Microscopía óptica a 100x.

En la figura 37-A se puede observar la morfología de un neutrófilo segmentado que muestra un núcleo lobulado con un citoplasma con una granulación levemente eosinofílica mientras que en la figura 37-B se muestra un neutrófilo en banda con un núcleo curvo y leve estrangulación, notando que su citoplasma muestra también una granulación ligeramente eosinofílica.

5.4.3. Plaquetas (agregación plaquetaria y morfología).

La estimación del número total de plaquetas no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas iguales ($p 0,699$). Se identificó un efecto significativo del tamaño corporal ($p 0,036$). En la figura 34-D se observa que las plaquetas en perros de tamaño corporal pequeño ($M 288528/mm^3$, $SD 105065$) fueron significativamente mayores que en perros de tamaño corporal grande ($M 237917/mm^3$, $SD 90820$; $p 0,030$). No encontramos un efecto significativo de la edad ($p 0,127$), sexo ($p 0,864$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,781$) sobre las plaquetas. No se observó agregación plaquetaria en alguno de los frotis.

Tabla 6. Intervalos de referencia de los componentes hematológicos del frotis sanguíneo según la etapa de vida del perro.

Variables	AD	Adultos 1 – 7.9 años n 44		Senior 8-11.9 años n 41		Geriatras < 12 años n 44		Valor p
		Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	
		Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	
Leucocitos (/mm³)	NG	8240 (1813) ^a 7500 (2775)	6000 (6000-6188) 12412 (11570-12450)	7515 (1331) ^a 7350 (1725)	6000 (6000-6150) 11663 (10830-11700)	6829 (1187) ^b 6450 (1050)	5100 (5100-5550) 10616 (9018-10800)	0.000
Neutrófilos seg. (%)	G	66.8 (10.4) ^a 61.5 (14.5)	36.1 (35-47) 89.4 (76.6-91)	65.5 (10) ^a 67 (15)	37.6 (37-51) 80 (79-80)	63.3 (10.9) ^a 64.5 (15.5)	39 (38-46.5) 83 (81-83)	0.931
Neutrófilos banda (%)	NG	3.3 (1.8) ^a 3.0 (2.0)	0 (0-1) 7.8 (6-8)	3.1 (1.7) ^a 3.0 (2.0)	0 (0-1) 7 (7-7)	3.0 (2.0) ^a 3.0 (2.0)	0 (0-1) 8.9 (6.9-9.0)	0.984
Linfocitos (%)	G	24.4 (8.6) ^a 26.5 (11.8)	4.4 (4.0-12.3) 41.8 (39-42)	21.9 (7.7) ^a 20.0 (11.5)	10.2 (10-13) 45.6 (34.8-46)	21.9 (9.5) ^a 21 (13)	7 (7.0-9.1) 47 (36.5-48)	0.649
Monocitos (%)	NG	3.6 (2.2) ^a 3.0 (3.0)	0.0 (0-1) 9.6 (6.9-10)	3.8 (2.7) ^a 4.0 (4.8)	0.0 (0-0) 11 (8-11)	4.7 (2.3) ^a 4.0 (3.0)	1 (1-2) 10.8 (8.9-11)	0.053
Eosinófilos (%)	NG	7.0 (6.1) ^a 6.0 (3.8)	0.0 (0-1) 15.9 (11.9-16)	5.2 (3.4) ^a 5.0 (4.5)	0.0 (0.0-0.1) 14.8 (10-15)	6.8 (4.8) ^a 6.0 (6.0)	0.0 (0.0-1.1) 15.9 (13-16)	0.491
Neutrófilos seg. (mm³)	NG	5133 (1609) ^a 4678 (2019)	2214 (2100-3164) 9500 (8830-9555)	4937 (1243) ^{a, b} 4662 (1827)	2386 (2331-3695) 9237 (6586-9360)	4364 (1250) ^b 4298 (1459)	2173 (2109-2753) 8036 (7040-8100)	0.041
Neutrófilos banda (mm³)	NG	266 (152) ^a 279 (222.4)	0 (0-9.6) 626 (513.4-636)	248 (159) ^a 225 (204)	3 (0-63.2) 733 (535.5-742.5)	204 (144) ^a 189 (132)	0 (0-6) 639.2 (453-648)	0.524
Linfocitos (mm³)	NG	1990 (839) ^a 1947 (888)	437 (420-830) 4661 (3210.2-4725)	1638 (625.6) ^{a, b} 1419 (823)	686.1 (675-995) 3481.4 (2865-3504)	1470.5 (631.6) ^b 1374 (780)	519 (510-636) 3063 (2640-3080)	0.020
Monocitos (mm³)	NG	287 (172.3) ^a 267 (219)	0 (0-67.5) 737.3 (582-750)	307.3 (258) ^a 300 (322.5)	0 (0-60) 1197 (752.4-1205)	320 (175) ^a 277 (253)	58 (57-126) 845 (607-864)	0.155
Eosinófilos (mm³)	G	415.1 (226.3) ^a 396 (241.5)	0 (0-107) 958 (842.1-960)	383.3 (261.4) ^a 337.5 (364.5)	0 (0-3.1) 1133 (795-1148)	420.3 (266.3) ^a 363 (360)	0 (0-61.3) 1125 (819-1134)	0.647
Plaquetas (mm³)	G	240,852 (105,190) ^a 214,500 (110,250)	83,250 (82500-127256) 564,938 (425250-573000)	268,390 (108,234) ^a 255,000 (135,750)	127,950 (127500-162112) 579,075 (435712-582000)	297,614 (101,006) ^a 277,500 (138,750)	166,200 (163500-192150) 526,500 (457250-532500)	0.127

AD = Prueba de normalidad Anderson-Darling; CI = Intervalo de confianza; G = Gaussiana; IQR = rango intercuartílico; LL: Límite inferior del intervalo de referencia; UL: Límite superior del intervalo de referencia; NG = No Gaussiana; SD = Desviación estándar. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) p < 0.05

5.4.4. Parámetros eritrocitarios (diámetro, altura y relación axial).

La tabla 7 muestra la media, la desviación estándar, la mediana, el rango intercuartil y la diferencia significativa con un intervalo de confianza del 95%, el límite inferior y el límite superior se determinaron con un intervalo de confianza del 90% de cada uno de los parámetros morfométricos eritrocitarios. Se evaluó el efecto de la edad, el sexo y el tamaño del cuerpo en los parámetros de los eritrocitos (diámetro, altura y relación axial). Los siguientes datos estadísticos se informan en los resultados: el nivel de significancia (p), la media (M) y la desviación estándar (SD).

Tabla 7. Parámetros de los glóbulos rojos (RBC) evaluados por microscopía óptica (MO).

Variables	(I) Adultos 1 - 7.9 años $n = 44$		(II) Senior 8 - 11.9 años $n = 41$		(III) Geriatras >12 años $n = 44$		Valor p
	Media (SD) Mediana (IQR)	LL (90% CI) UL (90% CI)	Media (SD) Mediana (IQR)	LL (90% CI) UL (90% CI)	Media (SD) Mediana (IQR)	LL (90% CI) UL (90% CI)	
Diámetro (μm)	7.56 (0.44) ^a 7.54 (0.61)	6.7 (6.7-6.8) 8.5 (8.4-8.6)	7.67 (0.49) ^b 7.65 (0.66)	6.8 (6.7-6.9) 8.7 (8.6-8.7)	7.72 (0.45) ^b 7.70 (0.63)	6.9 (6.8-6.9) 8.7 (8.6-8.7)	0.00
Altura (μm)	7.18 (0.42) ^a 7.16 (0.54)	6.4 (6.3-6.4) 8.0 (8.0-8.1)	7.29 (0.45) ^b 7.28 (0.58)	6.5 (6.4-6.5) 8.2 (8.1-8.3)	7.35 (0.44) ^c 7.35 (0.62)	6.5 (6.5-6.6) 8.2 (8.2-8.3)	0.00
Relación axial	1.05 (0.04) ^a 1.04 (0.05)	1.0 (1.0-1.0) 1.2 (1.1-1.2)	1.05 (0.04) ^a 1.04 (0.06)	1.0 (1.0-1.0) 1.2 (1.1-1.2)	1.05 (0.04) ^a 1.04 (0.06)	1.0 (1.0-1.0) 1.2 (1.2-1.2)	0.56

AD = Prueba de normalidad Anderson-Darling; CI = Intervalo de confianza; G = Gaussiana; IQR = rango intercuartil; LL: Límite inferior del intervalo de referencia; UL: Límite superior del intervalo de referencia; NG = No Gaussiana; SD = Desviación estándar. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) $p < 0.05$

La distribución del diámetro no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas no fueron iguales ($p < 0,001$). Se observó un efecto significativo de la edad ($p < 0,000$) sobre el diámetro. En la figura 38-A se muestra que el diámetro en perros adultos ($M 7,56 \mu\text{m}$, $SD 0,44$) fue significativamente menor que el diámetro de perros senior ($M 7,67 \mu\text{m}$, $SD 0,49$; $p < 0,004$) y geriatras ($M 7,72 \mu\text{m}$, $SD 0,45$; $p < 0,000$). No se identificó un efecto del sexo ($p < 0,069$), tamaño corporal ($p < 0,512$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p < 0,238$) sobre el diámetro.

La distribución de la altura no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p < 0,500$). Se observó un efecto significativo de la edad ($p < 0,000$) sobre la altura. En la figura 38-B se muestra que la altura en perros adultos ($M 7,18 \mu\text{m}$, $SD 0,42$) fue significativamente menor que la altura de perros senior ($M 7,29 \mu\text{m}$, $SD 0,45$; $p < 0,002$) y geriatras ($M 7,35 \mu\text{m}$, $SD 0,44$; $p < 0,000$). Además, la altura en perros senior fue

significativamente menor a la altura de perros geriatras (p 0,027). No se identificó un efecto del sexo (p 0,867), tamaño corporal (p 0,335) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,414) sobre la altura.

La distribución de la relación axial no fue normal (p <0,005) y las varianzas no fueron iguales (p 0,018). No se identificó un efecto de la edad (p 0,560), sexo (p 0,662), tamaño corporal (p 0,078) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,298) sobre la relación axial.

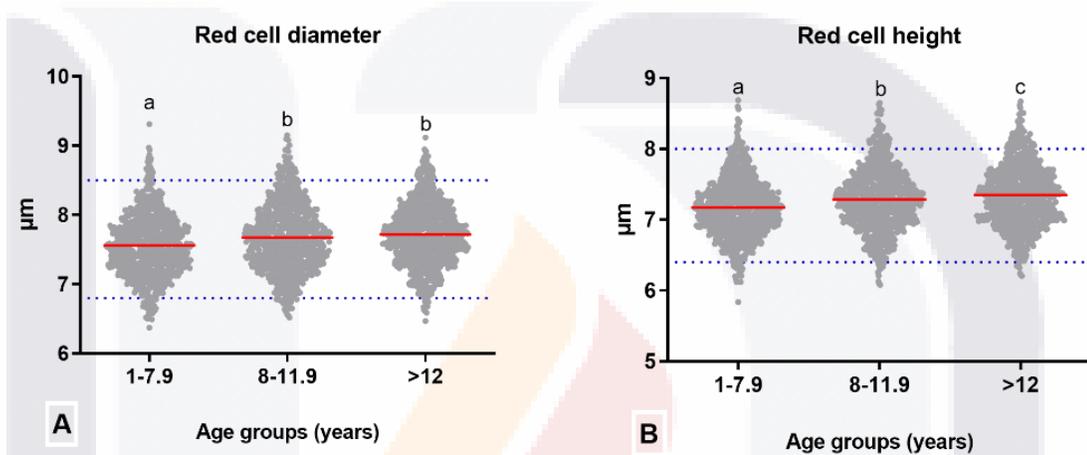


Figura 38. Medidas de los parámetros morfométricos de los eritrocitos en diferentes etapas de la vida del perro.

Comparación de las medias (línea roja) (a) diámetro y (b) altura entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos ($n = 44$, 1-7.9 años), personas mayores ($n = 41$, 8-11.9 años antiguo), y geriatría ($n = 44$, > 12 años). Las líneas punteadas azul horizontal representan el IR para perros adultos con un IC del 90% (ver tabla 6). Significa que no comparten una carta son significativamente diferentes (p <0.05).

5.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).

Las siguientes imágenes se obtuvieron a través de microscopía electrónica de barrido (MEB) y muestran la morfología normal de glóbulos rojos y leucocitos en perros adultos, senior y geriátricos. Las imágenes de células sanguíneas de perros adultos se muestran en la figura 39, se observa la morfología normal de los glóbulos rojos, con una característica superficie lisa y cóncava (figura 39-A). En la figura 39-B se observa la morfología de los granulocitos (neutrófilos) que presenta una superficie rugosa. También se hace una comparación entre la morfología y tamaño de leucocitos y eritrocitos (figuras 39-C y 39-D). Además, se identificó poiquilocitosis, como equinocitos, que se caracterizan por protuberancias uniformes (figura 39-E), glóbulos rojos más pequeños conocidos como esferocitos (figura 39-F), y codocitos, glóbulos rojos con un centro densamente oscuro y rodeados por un halo pálido, alrededor de la cual aparece una banda oscura irregular (figuras 39-G y 39-H).

En cuanto a los perros senior, en las figuras 40-A y 40-B se observa la morfología normal de los eritrocitos. Las anomalías identificadas en este grupo fueron los leptocitos, estas células son delgadas, generalmente de gran diámetro y muestran a menudo eritrocitos de apariencia hipocrómica con proporciones de membrana a volumen aumentadas (figura 40-C y 40-F), knizocitos RBC maduros que muestran tres concavidades con dos áreas más claras "Células de pinza" (figura 40-C y 40-D), estomatocitos, células con una o dos cavidades, es decir, una hendidura en forma de boca (figuras 40-D, E y F) y equinocitos (figura 40-F).

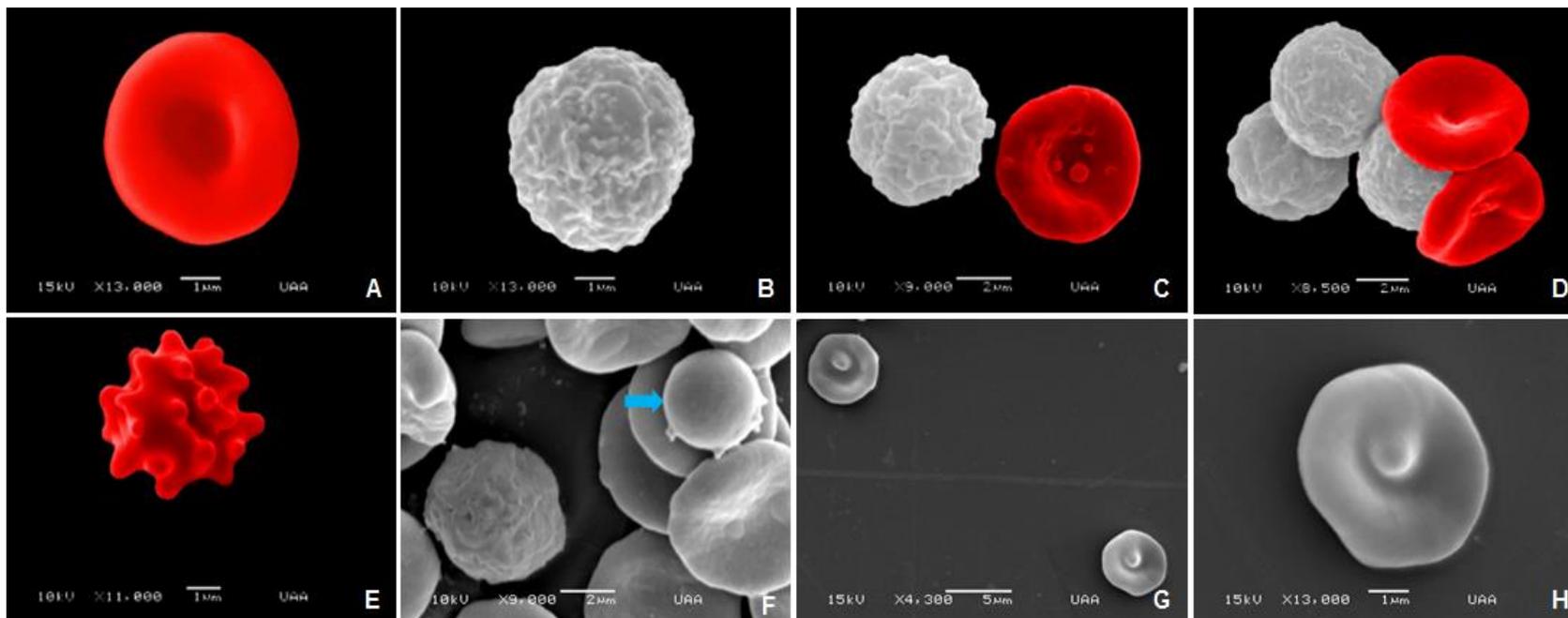


Figura 39. Imágenes SEM de células sanguíneas normales y anormales en perros adultos.

(A) Eritrocitos. (B) Leucocitos. (C) Comparación de un leucocito (izquierda) y un eritrocito (derecha). (D) Aglutinación de eritrocitos y leucocitos. (E) Equinocito. (F) Esferocito (flecha azul). (G, H) Codocitos.

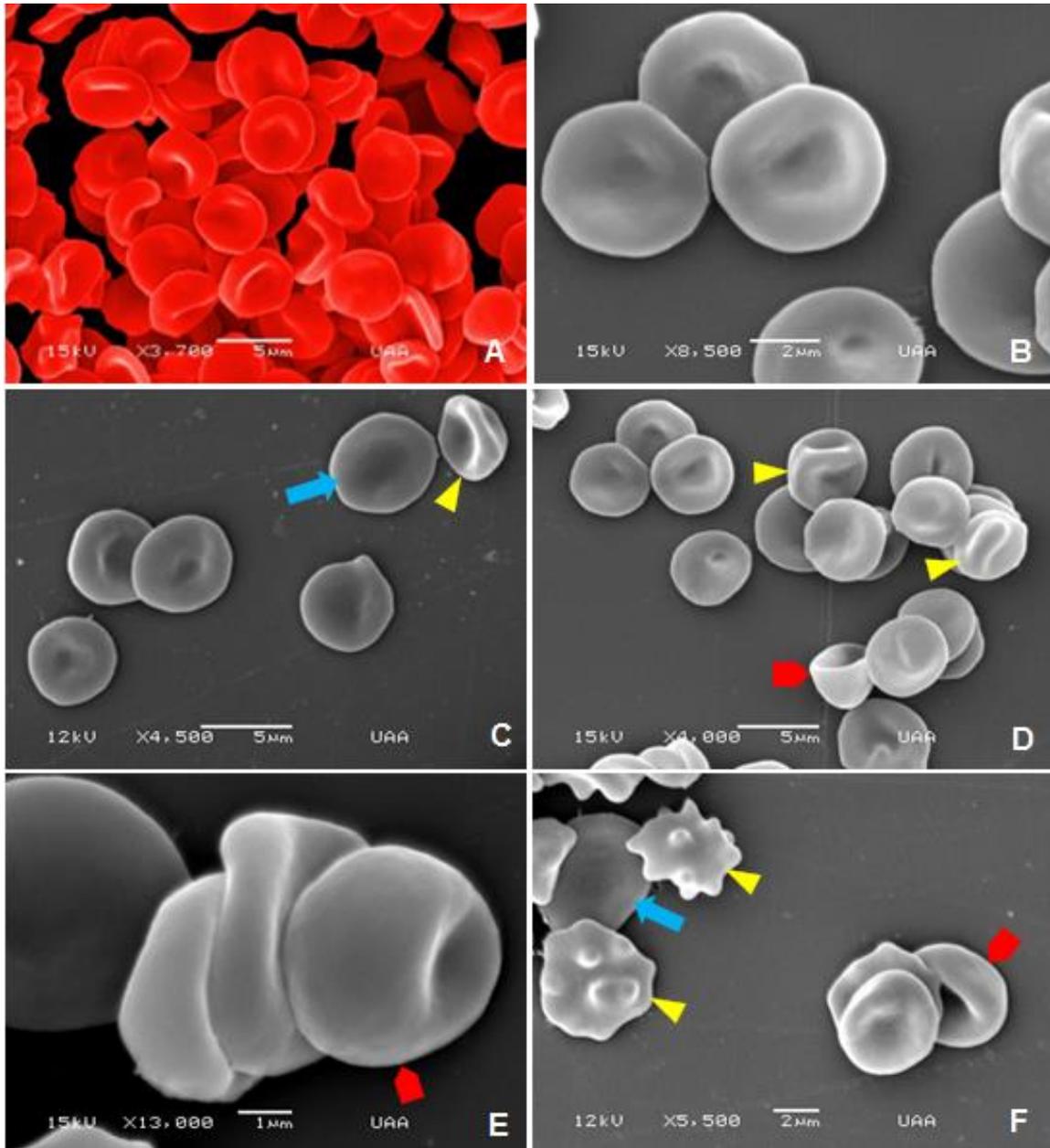


Figura 40. Imágenes SEM de células sanguíneas normales y anormales en perros senior.
 (A, B) Morfología de eritrocitos normales. (C) Leptocito (flecha azul) y knizocito (punta de flecha amarilla). (D) Estomatocitos (flecha roja del pentágono) y knizocitos (punta de flecha amarilla). (E) Estomatocito (flecha roja del pentágono). (F) Esferocito (flecha blanca) en perros adultos. (D) Leptocito (flecha azul), equinocitos (punta de flecha amarilla) y estomatocito (flecha roja del pentágono).

Finalmente, la figura 41 muestra la morfología normal y anormal de las células sanguíneas en perros geriátricos. En este grupo, las anomalías identificadas en los eritrocitos fueron estomatocitos (figura 41-C y 41-D), equinocitos (figura 41-E) y esfercitos (figura 41-F).

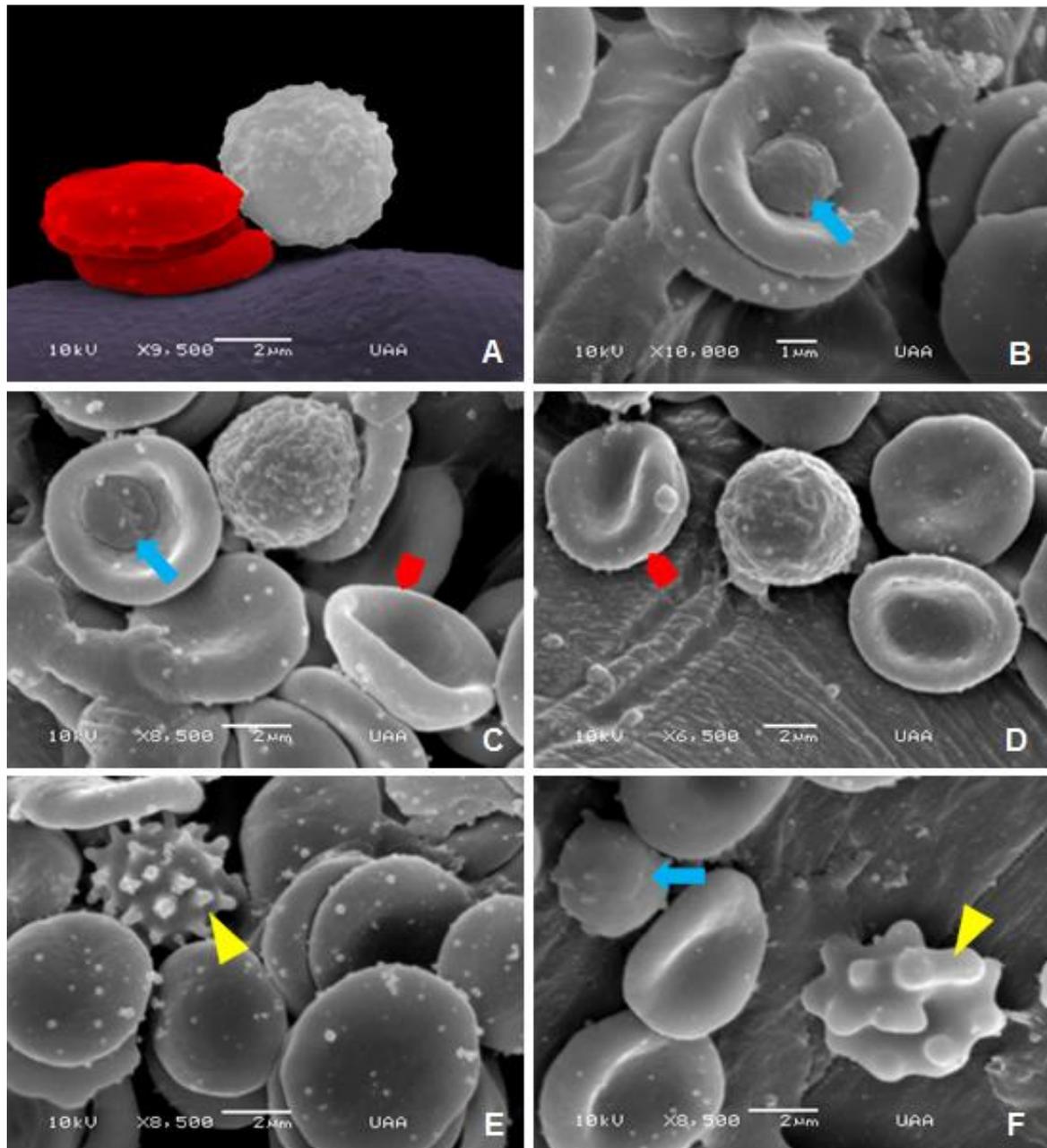


Figura 41. Imágenes SEM de células sanguíneas normales y anormales en perros geriátricos.
 (A) Morfología normal de eritrocitos y leucocitos. (B, C) Plaquetas (flecha azul). (C, D) Estomatocitos (flecha azul, flecha roja del pentágono). (E, F) Equinocitos (punta de flecha amarilla) y esfercitos (flecha azul).

5.6. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.

5.6.1. ALT, AST, FA, GGT.

En la tabla 8 se muestran los datos estadísticos de los analitos de la bioquímica sanguínea tales como, la media, desviación estándar, mediana, el rango intercuartílico y la diferencia significativa con un intervalo de confianza del 95%, el límite inferior y el límite superior se determinaron con un intervalo de confianza del 90%. Se evaluó el efecto de la edad, el sexo y el tamaño del corporal sobre los analitos bioquímicos (ALT, AST, GGT, FA, colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas, relación A/G, creatinina, BUN, urea, relación BUN/creatinina, calcio, fósforo, hierro).

Los siguientes datos estadísticos se informan en los resultados: el nivel de significancia (p), la media (M) y la desviación estándar (SD). La distribución de ALT no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas iguales ($p 0,058$). No hubo un efecto de la edad ($p 0,087$), sexo ($p 0,703$), tamaño corporal ($p 0,518$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,278$) sobre la actividad enzimática de ALT (figura 42-A). La distribución de la actividad enzimática de AST fue normal ($p 0,050$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,619$). No se observó un efecto de la edad ($p 0,935$), sexo ($p 0,956$), tamaño corporal ($p 0,108$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,406$) sobre la actividad enzimática de AST (figura 42-B). La distribución de la actividad enzimática de FA no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,251$). No se observó un efecto de la edad ($p 0,266$), sexo ($p 0,982$), tamaño corporal ($p 0,583$) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,898$) sobre la actividad enzimática de FA (figura 42-C). La distribución de GGT no fue normal ($p < 0,005$) y las varianzas fueron iguales ($p 0,492$). No se observó un efecto de la edad (figura 42-D) sobre la actividad de GGT ($p 0,769$). Se observó un efecto significativo del sexo sobre la actividad enzimática de GGT ($p 0,024$). En la figura 45-A se muestra que la actividad enzimática de GGT en hembras ($M 5,347$ U/L, $SD 1,731$) fue significativamente mayor que en machos ($M 4,737$; $SD 1,664$; $p 0,024$). No se observó algún efecto significativo del tamaño corporal ($p 0,212$) sobre la actividad enzimática de GGT, tampoco se mostró interacción entre edad, sexo y tamaño corporal ($p 0,274$).

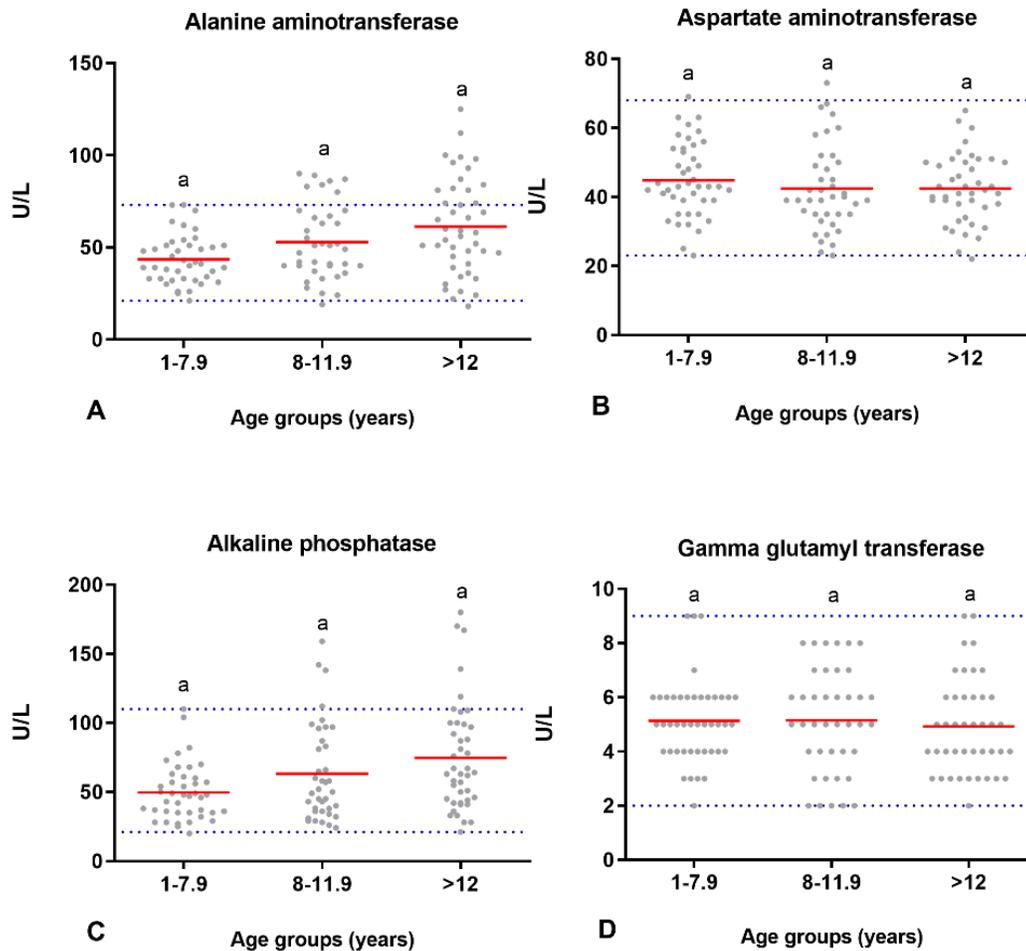


Figura 42. Actividad enzimática en sangre de perro en diferentes etapas de vida. Comparación de las medias (línea roja) de (A) ALT, (B) AST, (C) FA y (D) GGT entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

5.6.2. Colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas y relación A/G.

La distribución de la concentración de colesterol en sangre fue normal (p 0,653) y las varianzas iguales (p 0,748). En la figura 43-A se muestra que no hubo un efecto de la edad sobre la concentración de colesterol (p 0,596). Se identificó un efecto significativo estadísticamente del sexo sobre la concentración de colesterol (p 0,027). En la figura 45-B se observa que la concentración sérica de colesterol en hembras (M 207,32 mg/dL, SD 56,98) fue significativamente mayor que en machos (M 176,56 mg/dL, SD 67,09; p 0,027). No hubo un efecto del tamaño corporal (p 0,083) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,694).

La distribución de la concentración de glucosa en sangre fue normal (p 0,063) y las varianzas iguales (p 0,947). No se mostró un efecto significativo de la edad (p 0,223),

sexo (p 0,849), tamaño corporal (p 0,291) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,470) sobre la concentración sérica de glucosa (figura 43-B).

La distribución de la concentración de proteínas totales en sangre fue normal (p 0,184), y las varianzas iguales (p 0,646). En la figura 43-C se muestra un efecto significativo de la edad sobre la concentración sérica de proteínas totales (p 0,000). La concentración sérica de proteínas totales en perros adultos (M 6,01 g/dL, SD 0,802) fue significativamente menor que la concentración de proteínas totales en perros senior (M 6,688 g/dL, SD 0,556; p 0,001) y geriatras (M 6,625 g/dL, SD 0,636; p 0,003). No se identificó un efecto estadísticamente significativo del sexo (p 0,320), tamaño corporal (p 0,387) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,177) sobre la concentración de proteínas totales.

La distribución de la concentración de albumina en sangre fue normal (p 0,396) y las varianzas iguales (p 0,910). No se observó un efecto de la edad (p 0,275), sexo (p 0,869), tamaño corporal (p 0,699) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,343) sobre la concentración sérica de albumina (figura 43-D).

La distribución de la concentración de globulinas en sangre fue normal (p 0,432) y las varianzas iguales (p 0,744). Se observó un efecto significativo de la edad sobre la concentración sérica de globulinas (p 0,004). La concentración sérica de globulinas se muestra en la figura 43-E, donde la concentración en perros adultos (M 2,36 g/dL, SD 0,800) fue significativamente menor que la concentración sérica de globulinas en perros geriatras (M 3,061 g/dL, SD 0,633; p 0,003). No se observó un efecto del sexo (p 0,190), tamaño corporal (p 0,639) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,644).

La distribución de la relación albumina/globulinas en sangre fue normal (p 0,072) y las varianzas iguales (p 0,522). No se identificó un efecto significativo de la edad (figura 43-F) sobre la relación albumina/globulinas (p 0,059), sexo (p 0,141), tamaño corporal (p 0,292) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,077).

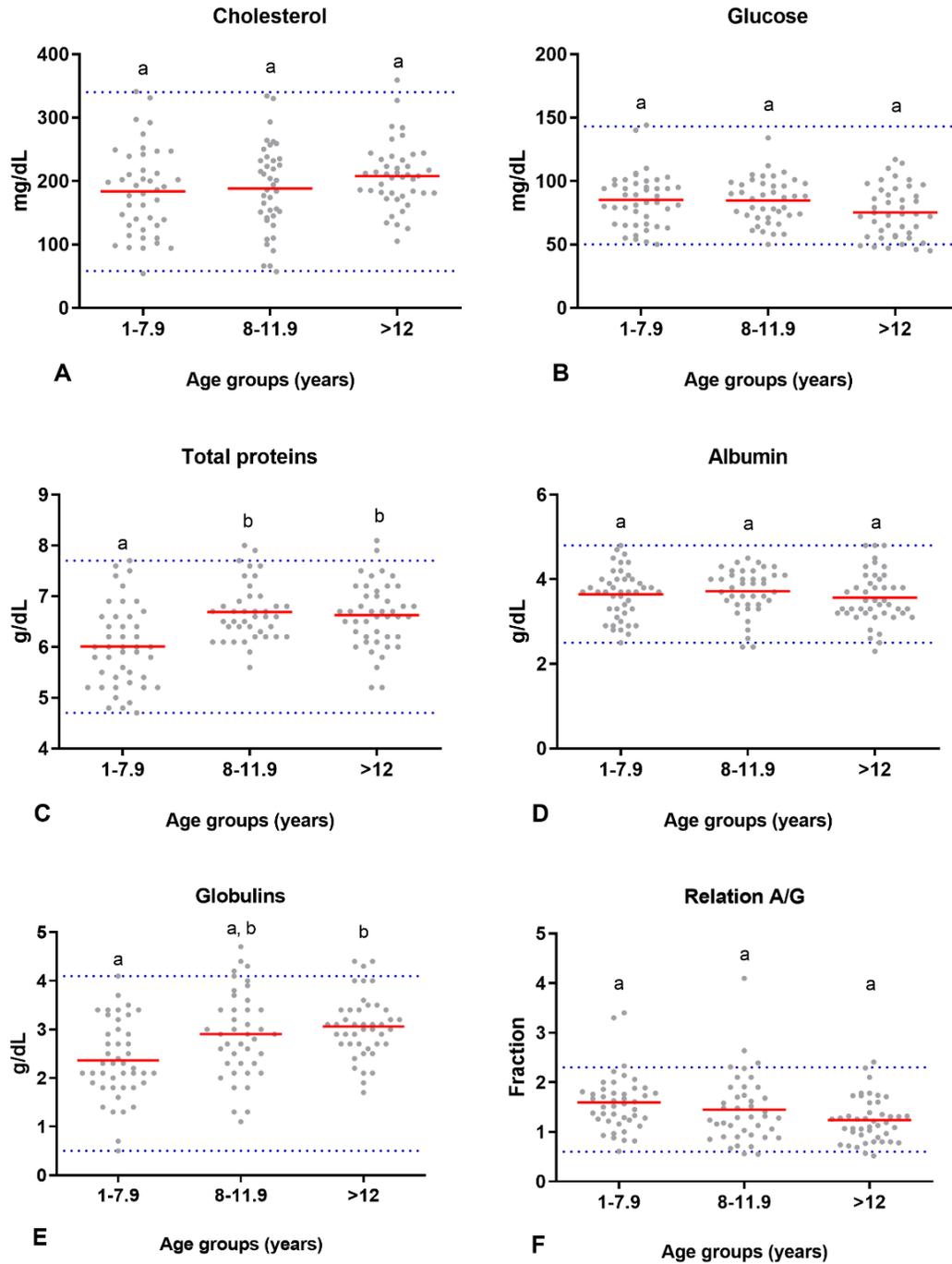


Figura 43. Concentración de analitos bioquímicos en sangre de perro en diferentes etapas de vida. Comparación de las medias (línea roja) de (A) glucosa, (B) colesterol, (C) proteínas totales, (D) albumina, (E) globulinas y (F) relación A/G entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

5.6.3. Creatinina, BUN, urea, relación BUN/creatinina.

La distribución de la concentración de creatinina en sangre fue normal (p 0,077) y las varianzas iguales (p 0,474). No se observó un efecto significativo de la edad (figura 44-A) (p 0,493), del sexo (p 0,950) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,785) sobre la concentración sérica de creatinina. Se identificó un efecto significativo del tamaño corporal sobre la concentración de creatinina en sangre (p 0,007). En la figura 45-C se observa que la concentración sérica de creatinina en perros de tamaño corporal pequeño (M 0,745 mg/dL, SD 0,184) fue significativamente menor que la concentración sérica de creatinina en perros de tamaño corporal grande (M 0,889 mg/dL, SD 0,201; p 0,015).

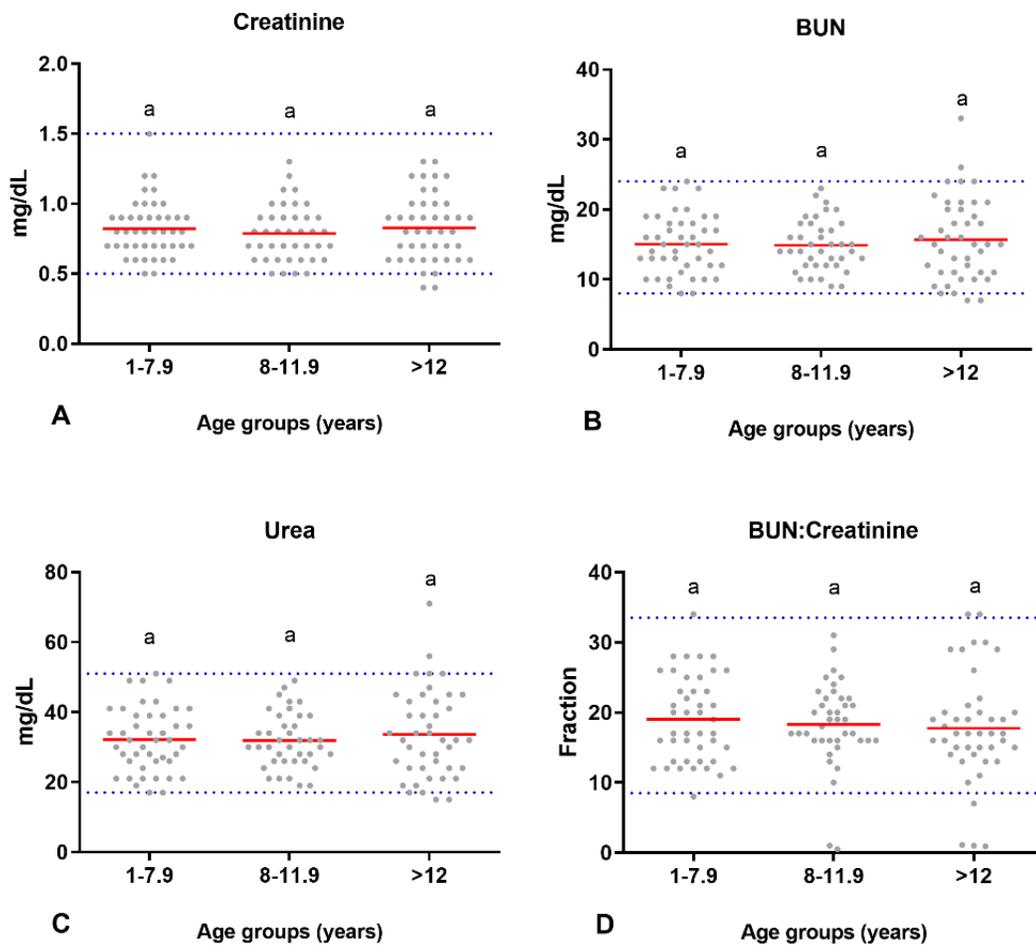


Figura 44. Concentración de analitos bioquímicos en sangre de perro en diferentes etapas de vida. Comparación de las medias (línea roja) de (A) creatinina, (B) BUN, (C) urea y (D) relación BUN/creatinina entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

La distribución de la concentración de BUN en sangre no fue normal (p 0,026) y las varianzas fueron iguales (p 0,217). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,815), sexo (p 0,729), tamaño corporal (p 0,761) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,758) sobre la concentración sérica de BUN (figura 44-B).

La distribución de la concentración de urea en sangre no fue normal (p 0,026) y las varianzas fueron iguales (p 0,217). No se observó un efecto significativo de la edad (p 0,815), sexo (p 0,729), tamaño corporal (p 0,761) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,758) sobre la concentración sérica de urea (figura 44-C).

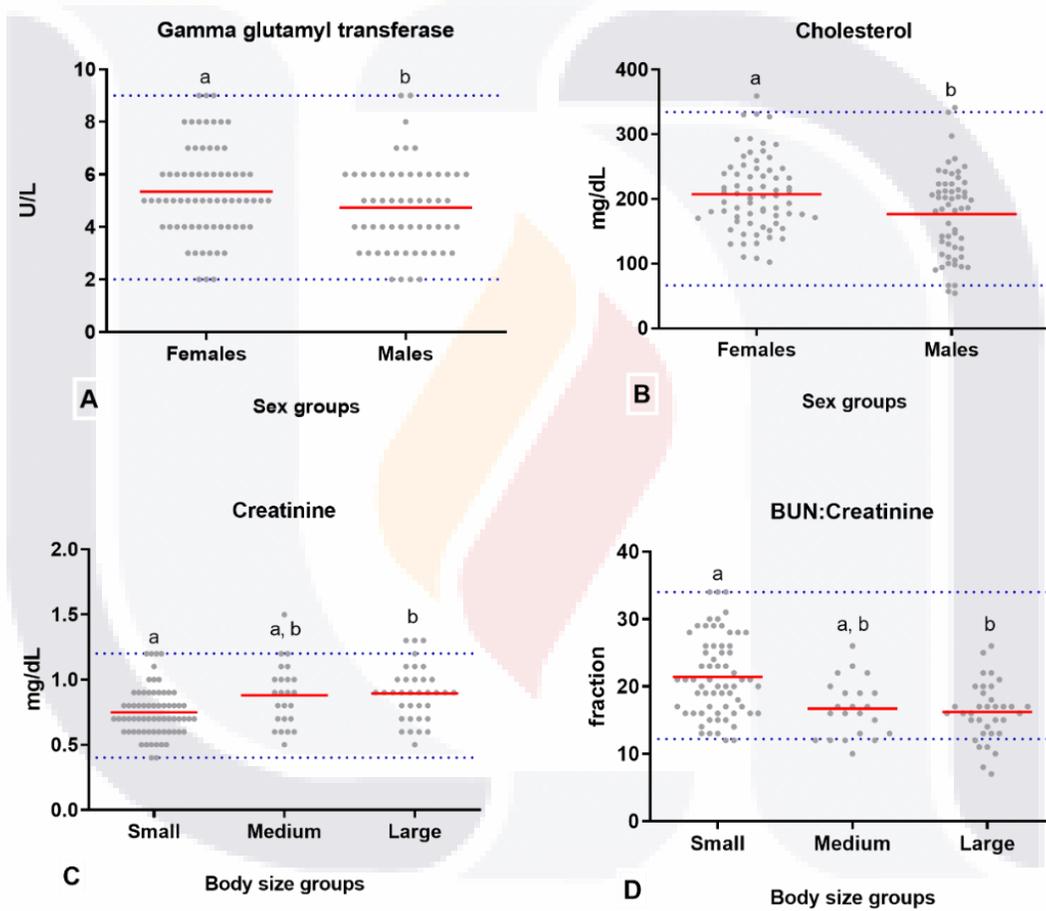


Figura 45. Efecto del sexo y del tamaño corporal sobre los analitos bioquímicos.

Comparación de las medias (línea roja) de (A) GGT, (B) colesterol, (C) Creatinina y (D) relación BUN/creatinina entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

La distribución de la relación de BUN/creatinina en sangre fue normal (p <0,005) y las varianzas fueron iguales (p 0,268). No se mostró un efecto de la edad (figura 44-D) (p 0,657), sexo (p 0,640) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,233) sobre la

relación de BUN/creatinina en sangre. Se observó un efecto significativo del tamaño corporal (p 0,000) sobre la relación de BUN/creatinina en sangre. En la figura 45-D se muestra que en perros de tamaño corporal pequeño (M 21,475; SD 5,839) la relación de BUN/creatinina fue significativamente mayor que en perros de tamaño corporal grande (M 16,223; SD 4,250; p 0,000).

5.6.4. Calcio, fósforo, hierro.

La distribución de la concentración de calcio en sangre fue normal (p 0,300) y las varianzas iguales (p 0,541). Se identificó un efecto significativo de la edad (figura 46-A) sobre la concentración sérica de calcio (p 0,002). La concentración de calcio en perros adultos (M 2,36 mg/dL; SD 0,800) fue significativamente menor que en perros geriatras (M 3,061 mg/dL; SD 0,633; p 0,001). No se observó un efecto significativo del sexo (p 0,860), tamaño corporal (p 0,652) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,117) sobre la concentración sérica de calcio.

La distribución de la concentración de fósforo en sangre fue normal (p 0,512) y las varianzas iguales (p 0,812). Se observó un efecto significativo de la edad (figura 46-B) sobre la concentración sérica de fósforo (p 0,000). La concentración de fósforo en perros adultos (M 3,386 mg/dL; SD 0,844) fue significativamente menor que en perros geriatras (M 4,417 mg/dL; SD 0,976; p 0,000). No se observó un efecto significativo del sexo (p 0,811), tamaño corporal (p 0,871) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,448) sobre la concentración sérica de fósforo.

La distribución de la concentración de hierro en sangre fue normal (p 0,739) y las varianzas iguales (p 0,907). No se observó un efecto significativamente estadístico de la edad (p 0,153), sexo (p 0,660), tamaño corporal (p 0,619) e interacción entre edad, sexo y tamaño corporal (p 0,897) sobre la concentración sérica de hierro (figura 46-C).

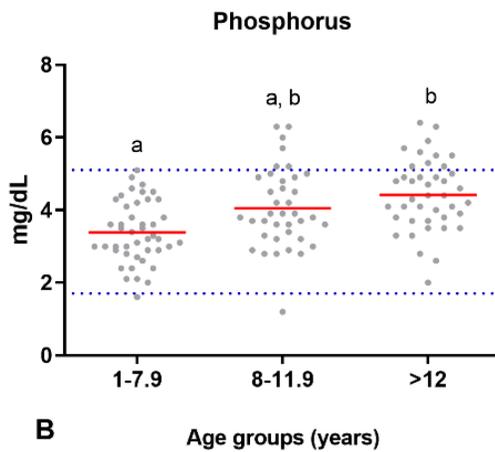
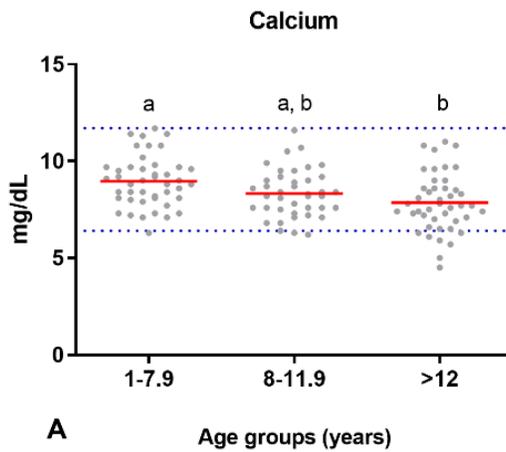


Figura 46. Concentración de analitos bioquímicos en sangre de perro en diferentes etapas de vida. Comparación de las medias (línea roja) de (A) calcio, (B) fósforo y (C) hierro entre grupos de perros clínicamente sanos de diferentes edades: adultos, senior y geriatras. Las líneas horizontales de puntos azules representan los IR para perros adultos con un IC del 90%.

Tabla 8. Intervalos de referencia de los componentes bioquímicos según la etapa de vida del perro (adultos, senior y geriatras).

Variables	AD	Adultos 1 – 7.9 años n 44		Senior 8-11.9 años n 41		Geriatras < 12 años n 44		Valor p
		Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	Media (SD)	LL (90% CI)	
		Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	Mediana (IQR)	UL (90% CI)	
ALT (U/L)	NG	44 (13.2) ^a	21 (21.0-26.2)	53 (20.23) ^a	21 (20.7-24.8)	61 (26,17) ^a	18 (18-24)	0.087
		41 (18)	73 (69.6-73.0)	50 (28.5)	103 (90.6-116.7)	58 (40)	124 (99.3-125)	
AST (U/L)	NG	45 (10.6) ^a	23 (23-30)	43 (12.4) ^a	23(23-26)	43 (9.9) ^a	22 (22-28)	0.935
		43 (15)	68 (62-69)	40 (14.7)	73 (66-73)	42 (13.7)	65 (59-65)	
ALP (U/L)	NG	50 (20.2) ^a	20(20-27)	63 (35.0) ^a	22 (19-25)	75 (39.3) ^a	22 (21-29)	0.266
		48 (25.5)	110 (81-110)	51 (53.2)	165 (128-204)	64 (55.7)	179 (162-180)	
GGT (U/L)	NG	5 (1.5) ^a	2 (2-3)	5 (1.9) ^a	2 (2-2)	5 (1.7) ^a	2 (2-3)	0.769
		5 (2)	9 (8-9)	5 (2.7)	8 (8-8)	5 (2.2)	9 (8-9)	
Colesterol (mg/dL)	G	183.7 (68.1) ^a	58 (54-94.4)	188.2(68.6) ^a	57.2 (57-90)	207.95 (51.1) ^a	107 (105-132.3)	0.596
		186 (109)	340 (292.2-341)	190 (91.5)	334 (292-334)	208 (53)	355.8 (284-359)	
Glucosa (mg/dL)	G	85.0 (20.8) ^a	50 (50-55)	84.7 (17.6) ^a	50 (50-60)	75.2 (20.3) ^a	45 (45-47)	0.223
		85.5(31.7)	144 (109.4-144)	87 (26)	133 (107-134)	74 (37)	118 (109-117)	
PT (g/dL)	G	6.0 (0.8) ^a	4.7 (4.7-4.9)	6.6 (0.5) ^b	5.6 (5.6-6.1)	6.6 (0.6) ^b	5.2 (5.2-5.7)	0.000
		6.0 (1.2)	7.7 (7.5-7.7)	6.6 (0.7)	8 (7.7-8)	6.6 (0.8)	8.1 (7.5-8.1)	
Albumina (g/dL)	G	3.6 (0.5) ^a	2.5 (2.5-2.8)	3.7 (0.5) ^a	2.4 (2.4-2.6)	3.5 (0.6) ^a	2.3 (2.3-2.7)	0.275
		3.7 (0.7)	4.8 (4.6-4.8)	3.8 (0.7)	4.5 (4.4-4.5)	3.4 (0.7)	4.8 (4.7-4.8)	
Globulinas (g/dL)	G	2.3 (0.8) ^a	0.5 (0.5-1.3)	2.9 (0.8) ^{a, b}	1.1 (1.1-1.8)	3.0 (0.6) ^b	1.7(1.7-2.1)	0.004
		2.2 (1.1)	4.1(3.5-4.1)	2.9 (1.2)	4.7 (4.3-4.7)	3.1 (0.7)	4.4 (4.2-4.4)	

AD = Prueba de normalidad Anderson-Darling; ALT = Alanino aminotransferasa; AST = Aspartato aminotransferasa; CI = Intervalo de confianza; G = Gaussiana; GGT = Gamma glutamil transferasa; IQR = rango intercuartílico; LL: Límite inferior del intervalo de referencia; UL: Limite superior del intervalo de referencia; NG = No Gaussiana; PT = proteínas totales; SD = Desviación estándar. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) $p < 0.05$

Tabla 8. Continuación. Intervalos de referencia de los componentes bioquímicos según la etapa de vida del perro (adultos, senior y geriatras).

Variables	AD	Adultos 1 – 7.9 años n 44		Senior 8-11.9 años n 41		Geriatras < 12 años n 44		Valor p
		Mean (SD)	LL (90% CI)	Mean (SD)	LL (90% CI)	Mean (SD)	LL (90% CI)	
		Median (IQR)	UL (90% CI)	Median (IQR)	UL (90% CI)	Median (IQR)	UL (90% CI)	
A/G	G	1.5 (0.4) ^a 1.5 (0.5)	0.6(0.0-0.8) 2.3 (2.1-2.3)	1.3 (0.5) ^a 1.2 (0.8)	0.5 (0.5-0.7) 2.6 (2.3-2.6)	1.2 (0.4) ^a 1.2 (0.6)	0.5 (0.5-0.7) 2.4 (2.1-2.4)	0.059
Creatinina (mg/dL)	G	0.8 (0.2) ^a 0.8 (0.2)	0.5 (0.5-0.6) 1.5 (1.2-1.5)	0.7 (0.1) ^a 0.7 (0.3)	0.5 (0.5-0.5) 1.3 (1.1-1.3)	0.8 (0.2) ^a 0.8 (0.3)	0.4 (0.4-0.5) 1.3(1.2-1.3)	0.493
Urea (mg/dL)	NG	32.2 (9.1) ^a 32.1 (12.84)	17.1 (17.1-19.5) 51.1(48.5-51.4)	31.8 (7.8) ^a 29.9 (12.8)	17.5 (15.9-20.2) 49.2 (44.8-53.5)	33.5 (12.4) ^a 32.1 (19.2)	15 (15-17.3) 69.1 (51.4-70.6)	0.815
BUN (mg/dL)	NG	15.0 (4.2) ^a 15 (6.0)	8 (8-9) 24 (23-24)	14.8 (3.6) ^a 14.0 (6.0)	8 (7-9) 23 (21-25)	15.6 (5.8) ^a 15 (9.0)	7 (7-8) 32 (24-33)	0.815
BUN/Creat	NG	19.0 (6.1) ^a 18.2 (11.6)	8.5 (8.2-11.6) 33.5 (28.2-34.3)	19.3 (4.5) ^a 19.1 (6.3)	11.1 (9.5-12.8) 29.5 (26.6-32.3)	19 (6.4) ^a 17.2 (5.8)	7.2 (7.1-10.8) 33.9 (30.4-33.9)	0.657
Calcio (mg/dL)	G	8.9 (1.3) ^a 8.9 (1.6)	6.4 (6.3-7.1) 11.7 (11.3-11.7)	8.3 (1.2) ^{a,b} 8.2 (1.6)	6.2(6.2-6.8) 11.6 (10.5-11.6)	7.8 (1.5) ^b 7.7 (1.6)	4.6 (4.5-5.8) 11 (10.7-11)	0.002
Fósforo (mg/dL)	G	3.3 (0.8) ^a 3.2 (1.2)	1.7(1.6-2.1) 5.1 (4.7-5.1)	4.1 (1.1) ^{a,b} 3.8 (1.6)	1.8 (1.4-2.3) 6.4 (5.7-7)	4.4 (0.9) ^b 4.4 (1.3)	2 (2-3.3) 6.4 (5.9-6.4)	0.000
Hierro (µg/dL)	G	151 (51) ^a 146 (70)	58 (55-81) 272 (246-273)	180 (49) ^a 179 (76)	94 (93-114) 302 (255-304)	158 (49) ^a 158 (70)	57 (54-82) 264 (224-264)	0.153

AD = Prueba de normalidad Anderson-Darling; A/G = Relación albumina globulina. BUN = Nitrógeno ureico en sangre; BUN/Creat = relación BUN creatinina; CI = Intervalo de confianza; G = Gaussiana; IQR = rango intercuartílico; LL: Límite inferior del intervalo de referencia; UL: Límite superior del intervalo de referencia; NG = No Gaussiana; SD = Desviación estándar. Grupos que no comparte una letra son diferentes significativamente (a, b, c) $p < 0.05$

CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 ENCUESTA.

De la encuesta dirigida a los habitantes de Aguascalientes a cerca de la población canina del estado, se obtuvo una proporción de perros por habitante de 1,112:1,969 es decir, un perro por cada 1.8 personas, con base a este dato y a la población de habitantes del estado según el INEGI en el 2020 se estimó una población de 805,117 perros. La mayoría de los hogares en los países occidentales tienen una mascota presente. En Estados Unidos, por ejemplo, estimaciones recientes sitúan la cifra en el 68% de los hogares, lo que equivale a 82,5 millones de hogares (APPA, 2014). Al respecto, en el estado de Aguascalientes existe un solo registro significativo en el año 2005 en donde se realizó un estudio en el que se determinó la población canina del estado de Aguascalientes, en el que se estimó una población de 66,961 perros lo que representa un perro por cada 8.5 personas (Martinez et al., 2005). Por lo tanto, nuestros resultados arrojan que existe una creciente población de perros en el estado, sin embargo, una de las limitantes de esta encuesta fue que a pesar de ir dirigida al público en general, su difusión y respuesta fue vía “*on line*”, por lo tanto, se cree que atrajo en mayor medida la atención de personas que tienen perros como mascota, al contrario de quienes no lo tienen, esto podría generar un sesgo en los resultados. Sin embargo, no cabe duda que hay un aumento de la población canina y es importante contar con un registro al respecto, que ayuden a implementar ciertas medidas sanitarias.

Una de las principales razones por lo que los habitantes tienen una mascota es por afecto y/o aprecio. Desde finales de la década de 1970, se ha acumulado evidencia científica que demuestra que tener una mascota puede tener efectos positivos en el bienestar físico y mental de las personas (Wells, 2019). Una mascota nos alientan a ser más activos, nos hacen reír, nos brindan consuelo y afecto, nos ayudan a sentirnos más seguros e incluso pueden ayudarnos a conectarnos con otras personas (McCune & Promislow, 2021). Desarrollos en el campo de la interacción humano animal han mejorado nuestra comprensión del papel que juegan las mascotas en la salud cardiovascular, su capacidad para ayudarnos a sobrellevar el estrés, algunas de las formas en que pueden permitirnos conservar la salud y la movilidad en la vejez, e incluso pueden mejorar nuestra función inmunológica (McCune et al., 2014).

Según nuestra encuesta mostro que al 72% de las personas les es indistinto la etapa de vida en la que se encuentre su perro. Por tanto, el 64% de los encuestados propietarios de perros como mascota, tienen perros en etapa adulta (1 a 7.9 años de edad), mientras que el 23% tienen perros en etapa senior y geriátrica. Cada vez más dueños de perros ven a sus perros como miembros de la familia, lo que ha resultado en un mayor gasto en productos relacionados con perros e incluso cambios significativos en el estilo de vida de los dueños de perros (Dotson & Hyatt, 2008).

Todos los propietarios de perros como mascota, consideraron importante que su perro tenga una vejez saludable. A pesar de que el 56% menciona realizar al menos dos visitas al año con el veterinario, solo el 20% se preocupa por una buena alimentación, el 11% realiza una actividad física y únicamente el 3% ofrece un suplemento alimenticio o enriquecimiento ambiental, además un 10% indico que en la actualidad no está haciendo nada para ayudar a que su perro tenga una vejez saludable. Existe evidencia que sugiere que los dueños de perros aún necesitan estar informados sobre los diversos aspectos de la tenencia de perros, particularmente sobre la importancia de comprender y manejar las necesidades de su perro, que cambian a medida que el perro envejece. Es posible que haya sesgos individuales en las opiniones de los propietarios sobre lo que implica el proceso de envejecimiento "normal" (Wallis et al., 2018).

Por otro lado, se identificaron 657 hembras y 455 machos, de los que únicamente el 35% has sido esterilizados quirúrgicamente. Se ha reportado que las diferencias de sexo en la longevidad y la duración de la salud en los perros dependen críticamente del estado de castración (Cooley et al., 2003). Los perros esterilizados generalmente tienen una vida más larga que los perros reproductivamente intactos (Hoffman et al., 2013). Los perros intactos tienen un mayor riesgo de muerte por causas infecciosas y traumáticas y los perros esterilizados tienen un mayor riesgo de muerte por causas neoplásicas e inmunomediadas (Wallis et al., 2018). Otro estudio informó que en perros reproductivamente intactos, los perros machos vivían un poco más que las hembras, pero entre los perros esterilizados, las hembras vivían más que los machos (Hoffman et al., 2018).

Con respecto a la raza según esta encuentra los habitantes de Aguascalientes prefieren razas de tamaño pequeño y mediano, principalmente mestizos, mientras que dentro de las razas puras se enlistaron en orden de preferencia las 6 razas favoritas: con una gran diferencia en primer lugar se sitúa la raza chihuahua, seguida de las razas french poodle,

pit bull terrier, schnauzer, pug y husky siberiano. Cuando se trata de seleccionar un nuevo compañero canino, elegir una raza incompatible podría tener consecuencias nefastas, tanto en el bienestar del dueño como del perro. Recientemente el comportamiento típico de las diferentes razas de perros ha atraído una atención científica de manera considerable (Mehrkam & Wynne, 2014). Algunos estudios demuestran que existen diferencias en los factores demográficos y de mantenimiento en perros mestizos y de raza pura, además principalmente se observan diferencias en el comportamiento (Turcsán et al., 2017). Por otro lado, se sabe que la genética juega es una parte importante en la esperanza de vida de los perros, por tanto se ha reportado que las razas pequeñas suelen vivir considerablemente más que la mayoría de las razas grandes (Fan et al., 2016).

En el tipo de alimentación el 65% de los encuestados propietarios de un perro como mascota declaro que únicamente ofrece una dieta basada en alimento comercial (croquetas), mientras que el 34% ofrece una dieta mixta (croqueta más comida casera) y el 1% solo comida casera. Las dietas deben ser apropiadas a las necesidades únicas del paciente individual. Muchas enfermedades en las mascotas mayores son "sensibles a la dieta", lo que significa que la dieta puede desempeñar un papel en el control de los efectos de la enfermedad (Laflamme, 2012). A pesar de las preferencias de los consumidores y de las muchas estrategias de marketing empleadas, las dietas deben garantizar la adecuación nutricional del perro; si no, la salud se ve comprometida, a veces gravemente (Oberbauer & Larsen, 2021). Las alteraciones específicas en los nutrientes o en las características de la dieta pueden ser beneficiosas; sin embargo, es mejor hacerlo en el contexto de un paradigma de seguimiento y evaluación nutricional individualizado (Larsen & Farcas, 2014).

Mientras tanto, el 85% de los perros contabilizados en esta encuesta estaban vacunados y el 79% desparasitados, además el 95% de los propietarios estaban interesados en realizar pruebas de laboratorio (gratuitas) a sus mascotas. Algunos autores mencionan que existe la necesidad de una mayor transparencia y pautas claras para los dueños de perros en diferentes etapas de la vida. Por ejemplo, muchos propietarios desconocen la existencia de tratamientos nutricionales, médicos, nutracéuticos, así como los beneficios del enriquecimiento cognitivo, el control de peso, la fisioterapia y el ejercicio para mejorar el estado físico y cognitivo de sus perros, independientemente de su edad o enfermedad (Wallis et al., 2018).

Por último, 79% de los encuestados informaron observar perros en situación de calle en sus fraccionamientos. Lamentablemente, millones de mascotas en todo el mundo son entregadas a refugios o abandonadas en las comunidades, debido a la falta de conocimiento y comprensión del cuidado necesario para mantener a las mascotas en el hogar. Por lo tanto, para garantizar el bienestar de las mascotas, existen una serie de factores que deben considerarse, incluida la selección de una mascota adecuada para la familia y su estilo de vida, además de tener una comprensión realista del tiempo y las demandas financieras de proporcionar socialización, capacitación, nutrición, ejercicio y atención veterinaria según sea necesario (McCune et al., 2014).

Una Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado (ENBIARE) realiza en México, captó que el 73.4% de la población adulta (mayores de 18 años) declaro que cohabita con alguna mascota. Con respecto a los hogares, el 69.8% cuenta con algún tipo de mascota (el porcentaje más alto se presenta en Campeche y el más bajo en la Ciudad de México). En total se tiene un acumulado de 80 millones de mascotas, 43.8 millones de ellas son caninos, 16.2 millones felinos y 20 millones una variedad miscelánea de otras mascotas (INEGI, 2021). En la actualidad se desconoce la cifra exacta de perros en situación de calle en México. Un estudio realizado sobre la densidad de población de perros callejeros en una típica ciudad del sur de México que carece de un programa integral de control canino, menciona que la sobrepoblación de perros callejeros es un reflejo de la práctica habitual de los dueños de permitir que sus perros se reproduzcan indiscriminadamente, aunado a la falta de programas públicos para el control de la población canina (Cortez-Aguirre et al., 2018).

6.2 EXPLORACIÓN FÍSICA.

6.2.1. Constantes fisiológicas (temperatura rectal, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria).

Con respecto a la temperatura (rectal) no se observó un efecto de la edad, el sexo, el tamaño corporal y su interacción (sexo, edad y tamaño corporal) sobre esta variable. Otros autores tampoco encontraron una relación significativa de la edad (Cugmas et al., 2020; Gomart et al., 2014; Piccione et al., 2009) y el sexo sobre la temperatura rectal en perros (Cugmas et al., 2020). Sin embargo, en un estudio realizado en perros observaron una influencia significativa del sexo sobre los resultados de la temperatura rectal (Gomart et al., 2014). También otros investigadores han reportado una correlación entre el tamaño

corporal y la temperatura (Cugmas et al., 2020; Piccione et al., 2009). La media de la temperatura rectal encontrada en este estudio para grupo de edad fue de 38,9 °C (*SD* 0,47 °C) en perros adultos, 38,9 °C (*SD* 0,37 °C) en perros senior y de 38,6 °C (*SD* 0,5 °C) en perros geriatras. Además, reportamos una media general de 38,8 °C (*SD* 0,4 °C) y un rango de 38,1 °C a 39,6 °C (tabla 3). En un estudio realizado en perros hospitalizados en donde evaluaron la precisión de diferentes técnicas para medir la temperatura, reportaron una media de 38,0 °C (*SD* 0,85 °C) de temperatura rectal (Gomart et al., 2014). Por otro lado, una investigación en donde comparan la temperatura auricular con la rectal en perros sanos, informaron un rango de 37,2 °C a 39,3 °C con una media de 38,1 °C para la temperatura rectal (Konietschke et al., 2014).

En cuanto a los resultados de la frecuencia cardíaca (FC), no se identificó una relación significativa con la edad, el sexo, el tamaño corporal y su interacción. Estos resultados concuerdan con los hallazgos de un estudio previo en el que la FC se midió mediante auscultación torácica y electrografía en perros sanos, en donde no encontraron un efecto significativo de la edad, el sexo y el peso corporal sobre la FC (Ferasin et al., 2010). Además, un estudio previo realizado en una población de perros aparentemente sana, no mostro una relación entre la edad y la FC (Hezzell et al., 2013). Otros investigadores que midieron la FC en perros sanos mediante electrografía ambulatoria de 24 horas no demostraron una relación entre la FC y el peso corporal (Lamb et al., 2010). La relación entre el peso corporal y la FC en perros (es decir, las razas pequeñas tienen FC más alta; las razas grandes tienen FC más baja) que se ha propuesto durante décadas, actualmente está siendo cuestionada (Aleixo et al., 2019). Esa relación puede ser un reflejo del temperamento y la estimulación del sistema nervioso autónomo simpático del nódulo sinusal en razas pequeñas en comparación con las razas grandes (Lamb et al., 2010). Un estudio retrospectivo del 2019 reportó que el peso no es un factor relevante para determinar la FC (Aleixo et al., 2019). Por otro lado, un estudio realizado en 30 perros de diferentes edades y razas, encontraron que la FC difirió significativamente entre hembras y machos (Edwards et al., 2022). A pesar de su importancia en la práctica clínica, existe poca información sobre la frecuencia cardíaca normal en perros, en parte es debido a su variabilidad que depende del estado de la condición fisiológica y psicológica (Lamb et al., 2010).

En los resultados de la frecuencia respiratoria (FR) no se identificó una relación significativa con la edad, el sexo, el tamaño corporal y su interacción. Un estudio previo en

donde evaluaron la FR durante el sueño en perros aparentemente sanos no encontraron ningún efecto de la edad y el peso corporal sobre la FR (Rishniw et al., 2012).

6.2.2. Puntaje de disfunción cognitiva.

En la evaluación de la disfunción cognitiva canina observamos que el puntaje tiende incrementar significativamente conforme avanza la edad. De acuerdo con los hallazgos de otros investigadores observaron que la puntuación de CCD aumento significativamente con la edad (Ozawa et al., 2016). Las puntuaciones de CCD se calcularon a partir de un cuestionario establecido por (Salvin et al., 2011) que completaron los propietarios de los perros y se consideró que los perros con una puntuación ≥ 50 sufrían de CCD (Ozawa et al., 2016). Sin embargo, tal como ocurre con la demencia en humanos, deben excluirse las causas reversibles y transitorias de los cambios en el comportamiento antes de hacer un diagnóstico definitivo (Salvin et al., 2011). La media del puntaje de CCD en este estudio para perros adultos fue de 34, para perros senior de 37 y en perros geriatras de 38, además se identificó un aumento significativo en el puntaje de CCD a partir de los 8 años de edad y fue hasta los 10 años de edad cuando comenzamos a observar algunos puntajes ≥ 50 . Otros estudios reportan que la media en perros diagnosticados con “demencia” (DEM) o CCD fue de 62 y de 40 para perros sin (DEM). Además, los perros diagnosticados con DEM (13 años 8 meses) eran significativamente mayores que los perros sin DEM (11 años 8 meses, $p = 0,004$) (Salvin et al., 2011). Otros autores también informaron que la edad fue significativamente mayor para los perros en el grupo con CCD en comparación con los perros en los grupos sin CCD (Schütt et al., 2015). Un estudio estimó una prevalencia de 14,2 a 22,5 % en animales de 8 años o más (Schütt et al., 2015), mientras que otro informó que el 23 % de los perros de 11 a 12 años y el 68 % de los perros de 15 a 16 años tenían al menos 1 signo compatible con CCD (Neilson et al., 2001). Por otro lado, nuestros resultados muestran que el sexo, el tamaño corporal y la interacción de los factores no tienen un efecto significativo sobre el puntaje de CCD. Esto concuerda con los reportes de otras investigaciones (Fast et al., 2013).

6.3 HEMATOLOGÍA.

6.3.1. Serie roja (RDW).

En la serie roja del analizador automático se identificaron diferencias estadísticamente significativas en RDW-CV, al aumentar sus valores conforme avanza la edad. Este incremento fue significativo entre el grupo de perros adultos y geriatras. Otros autores, reportan únicamente una tendencia creciente en los valores de RDW con el aumento de la edad (Radakovich et al., 2017). Mientras que un estudio realizado en perros beagle de 9 a 36 meses de edad encontraron un aumento significativo en los valores de RDW con la edad (Bourgès-Abella et al., 2015). También se observó que los valores de RDW-CV en perros de tamaño pequeño fueron estadísticamente menores que en perros de tamaño grande.

6.3.2. Serie blanca (GB, LYM, MID, GRAN relativos y absolutos).

Mientras que en la serie blanca se identificó que los valores de GB y GRAN absolutos fueron significativamente mayores en perros adultos que en perros geriatras, es decir se observó una disminución significativa conforme avanza la edad.

Además, se observó que en hembras los valores de MID relativos fueron menores que en machos significativamente. Esto coincide con un estudio previo (Lawrence et al., 2013). Una limitante en nuestro estudio es que no se evaluó el efecto de las hormonas y la castración, quizá esta información puede ayudar a comprender el efecto del sexo sobre algunas de las variables analizadas en esta investigación. En el trabajo realizado por Lawrence et al., 2013 reportaron que los perros castrados tenían valores más bajos de monocitos en comparación con los perros intactos del mismo sexo, además mencionan que las hormonas sexuales tanto en hembras como en machos son necesarias para una hematopoyesis óptima.

6.3.3. Plaquetas (PLQ, MPV, PDW, PCT, P-LCR y PLCC).

En cuanto a la concentración de PLQ, PCT aumentaron con la edad significativamente entre los grupos de perros adultos y geriatras. Un estudio realizado en perros de edad avanzada encontraron un aumento significativo de plaquetas en perros senior y geriatras en comparación con perros adultos (Radakovich et al., 2017). Asimismo otros investigadores reportan un aumento progresivo de la concentración de plaquetas con la edad, que puede ser atribuido al aumento de la carga inflamatoria (Lawrence et al., 2013).

También puede ser asociada a una trombosis reactiva secundaria a la inflamación, la interleucina-6 aumenta en la inflamación y estimula la producción de trombopoyetina, lo que a menudo provoca trombocitosis en los trastornos inflamatorios (Kaser et al., 2001).

Mientras que los valores de MPV, PDW y P-LCR disminuyeron significativamente conforme incrementaba la edad. Un trabajo previo observó un aumento de MPV en perros adultos (1-3 años de edad) en comparación con los perros mayores (7-10 años de edad) (Lee et al., 2020). Una investigación realizada en la población de personas españolas reportó que el MPV, PDW y P-LCR aumentaron con la edad (Vázquez-Santiago et al., 2016). En medicina humana esto ha sido poco estudiado, por ende, en no hay información al respecto en perros que evalué el efecto de la edad sobre PDW y P-LCR.

Por otro lado, se observó una diferencia significativa entre hembras y machos sobre los valores de P-LCR y P-LCC, siendo mayores en hembras. Un estudio realizado en humanos sugiere que es necesario definir intervalos de referencia específicos por sexo para los MPV, P-LCR y PCT (Ali et al., 2019).

Mientras que los valores de PLQ y P-LCC en perros pequeños fueron estadísticamente mayores que en perros de tamaño grande. En medicina humana se ha observado que el tamaño corporal parece influir en la respuesta plaquetaria sobre algunos medicamentos usados en pacientes con síndromes coronarios agudos (Ndrepepa et al., 2021). Sin embargo, se requieren de mayores investigaciones que evalúen el efecto del tamaño corporal sobre algunas variables hematológicas en perros.

6.4. MICROSCOPIA ÓPTICA.

6.4.1. Serie roja (tamaño, color, forma, distribución, cuerpos de inclusión y parásitos eritrocitarios).

Por su parte, en la evaluación microscópica de la serie roja, en cuanto a tamaño y color, se observó anisocitosis y policromatofilia. Esto se puede observar en condiciones normales. En particular, la policromatofilia puede identificarse en frotis teñidos con Wright, pero esta observación debe ser inferior al 1 % (Rizzi et al., 2010) Además, se observó policromasia principalmente en perros geriátricos junto con macrocitos y eritroblastos. La pérdida del núcleo de glóbulos rojos (eritroblastos) da lugar a reticulocitos, glóbulos rojos más grandes (macrocitos) y basófilos (coloración azul) (Morales, 2009). Los eritrocitos policromatofílicos son reticulocitos que se tiñen de rojo azulado debido a la presencia combinada de hemoglobina (tinción roja) y ribosomas (tinción azul) (John W. Harvey,

2012). La policromatofilia, cuando es moderada, es un fenómeno fisiológico en la regeneración de eritrocitos de la médula ósea, que generalmente se acompaña de un número importante de macrocitos. Su aspecto ligeramente violeta o violáceo está determinado por la alta concentración de ARN (ácido ribonucleico) en los reticulocitos agregados y cuando esta concentración es baja es indicativo de la presencia de reticulocitos punteados (Christian, 2010).

Por otro lado, en las micrografías ópticas se observó poiquilocitosis como equinocitos, acantocitos, codocitos, esferocitos, estomatocitos, dacriocitos, quatrefoil y leptocitos. Se observaron con mayor frecuencia tres formas anormales de eritrocitos: acantocitos, codocitos y dacriocitos. Esto es consistente con los hallazgos hematológicos en perros por otros autores. (Grandía G et al., 2019). Los equinocitos están presentes en glomerulonefritis, uremia, linfomas, alcalosis y después de la administración de furosemida y doxorubicina. Además, pueden aparecer como artefactos si el volumen de sangre recolectado es demasiado bajo en relación con el contenido de EDTA en el vial (Daleke, 2003; Stefanescu et al., 2018). Los acantocitos en perros aparecen principalmente en hepatopatías crónicas, shunt portosistémico, CID (coagulación intravascular diseminada), neoplasias y nefropatías (glomerulonefritis) (Barger, 2010). Los codocitos también se conocen como células diana. Ocurren en asociación con daño hepático, enfermedad renal, anemia por deficiencia de hierro, trastornos de los conductos biliares y del bazo (N. Bexfield, 2020; Parachini-Winter et al., 2019; M.A. Thrall, 2006). Los esferocitos, que son células pequeñas sin palidez central, son característicos de la esferocitosis hereditaria y la anemia hemolítica autoinmune (Garden et al., 2019; Zoia et al., 2018). Los estomatocitos son el resultado de defectos en la membrana de los glóbulos rojos que se encuentran en enfermedades hemolíticas y enfermedades hereditarias (Bonfanti et al., 2004; Kumar, 2017). Los dacriocitos aparecen principalmente en trastornos mieloproliferativos, hiperesplenismo y glomerulonefritis. Se observan como glóbulos rojos en forma de lágrima por daño en la membrana celular, atravesando los estrechos sinusoides medulares o esplénicos (Barger, 2010; Morales, 2009). Quatrefoil es una célula en forma de cruz, asociada con el envejecimiento de los perros como se describe en un estudio (Gavazza et al., 2014). Sin embargo, en este estudio, la presencia de eritrocitos quatrefoil fue independiente de la edad. Los leptocitos están asociados con un menor contenido de hemoglobina y se han descrito en medicina humana (Ciccoli et al., 2013).

6.4.2. Serie blanca (leucocitos, diferencial).

Mientras que en la serie blanca de la MO se observó un efecto significativo de la edad sobre los valores de leucocitos, linfocitos absolutos y neutrófilos absolutos, al disminuir conforme avanza la edad. Los hallazgos de un estudio del 2017 reportan que los perros que envejecen tienen concentraciones de linfocitos más bajas en comparación con los perros adultos, hallazgo asociado con el “envejecimiento normal” (Radakovich et al., 2017). Este resultado ha sido reportado por varias investigaciones (Bourgès-Abella et al., 2015; Lawrence et al., 2013; Reis et al., 2005) atribuido a la inmunosenescencia (Day, 2010). La disminución de linfocitos generalmente se atribuye a una pérdida de células CD4(+) con el aumento de la edad (Blount et al., 2005; Watabe et al., 2011).

6.4.3. Plaquetas.

En cuanto al conteo de plaquetas de la MO se identificó un efecto estadísticamente significativo del tamaño corporal sobre la concentración de plaquetas, en perros pequeños las plaquetas fueron mayores en comparación con los perros de tamaño mediano y grande. Se describió anteriormente en el apartado de hematología.

6.4.4. Parámetros eritrocitarios (diámetro, altura y relación axial).

Con respecto a los parámetros eritrocitarios, el diámetro de los eritrocitos evaluado en este estudio a partir de las micrografías ópticas obtuvo una media en perros adultos de 7,56 μm menor que el diámetro de los perros mayores (7,67 μm) y geriátricos (7,72 μm). Estos resultados muestran un efecto de la edad sobre el diámetro de los eritrocitos. Algunos autores informan que el diámetro de los eritrocitos de los perros varía de 6 a 8 μm (Adili et al., 2016; Rizzi et al., 2010). También se observó un efecto de la edad sobre la altura de los eritrocitos, aumentando con la edad (tabla 7). Estos resultados pueden estar relacionados con la presencia de policromasia descrita en este estudio. La policromasia, como se mencionó anteriormente, aparece en aproximadamente el 1% de los perros sanos. Sin embargo, proporciones más altas pueden indicar aumento de la eritropoyesis, pérdida de sangre, enfermedad hemolítica o fases de remisión de la anemia (Morales, 2009). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la proporción axial de glóbulos rojos. Tampoco se observó un efecto del sexo, el tamaño corporal y la interacción (edad, sexo y tamaño corporal) sobre el diámetro, la altura y la relación axial. Otros autores han demostrado que la raza y la edad tienen un efecto

significativo en la morfometría de los glóbulos rojos (Aniołek et al., 2017; Brun-Hansen, et al., 2006).

6.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).

Mientras tanto en las micrografías MEB se observó poiquilocitosis tales como equinocitos, codocitos, estomatocitos, leptocitos y esferocitos que también fueron descritos en el apartado de microscopía óptica. Los cambios morfológicos en los glóbulos rojos se han asociado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares en medicina humana (Loyola-Leyva et al., 2018). En condiciones inflamatorias, en presencia de radicales hidroxilo, algunos investigadores han descubierto que los glóbulos rojos pierden su forma discoide (Pretorius, 2013). Algunas observaciones recientes basadas en diferentes tipos de microscopía concluyeron que el hierro tiene efectos importantes en la morfología y deformabilidad de los glóbulos rojos (Pretorius & Kell, 2014). No obstante, estas importantes contribuciones se han aplicado a la medicina humana, mientras que la información sobre el uso de la microscopía electrónica de barrido como herramienta de diagnóstico en medicina veterinaria es bastante limitada debido a su costo y disponibilidad.

6.6. BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.

6.6.1. ALT, AST, FA, GGT.

En los valores de ALT y FA se observó una tendencia a incrementar la actividad enzimática en relación con el incremento de la edad, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Otros autores también reportan que la actividad enzimática de FA en perros envejecidos fue mayor que en animales jóvenes, aunque no tuvieron diferencias significativas (Koh Kawasumi et al., 2014). Sin embargo un estudio previo reporto que los perros envejecidos tienen una actividad enzimática hepática de ALT y FA aumentadas de manera significativa (Bellows et al., 2015; Radakovich et al., 2017). En un estudio reciente en pacientes caninos con trastorno cognitivo leve observaron un aumento de ALT una enzima hepática esencial para el metabolismo de aminoácidos, su valor alcanza el límite superior de los valores de referencia, permaneciendo así dentro del rango fisiológico (Vikartovska et al., 2021). Los niveles sanguíneos de ALT y AST también se utilizan para medir factores asociados con enfermedades cardiovasculares y

metabólicas, conocidas como factores de riesgo de EA y deterioro cognitivo en humanos (Estrada et al., 2019; Goessling et al., 2008; Nho et al., 2019). Aunque, es necesario estudios adicionales que determinen si las alteraciones metabólicas en la fisiopatología de los trastornos cognitivos representan un factor causal o secundario, y si las enzimas hepáticas podrían incluirse como biomarcadores para el diagnóstico temprano de la neurodegeneración (Nho et al., 2019). Mientras que un estudio reciente sugiere en estudios futuros medir una isoenzima de FA inducida por corticoesteroides debido a que posiblemente los perros de edad avanzada tienen hiperadrenocorticismos o estrés crónico. Además este mismo estudio menciona que la colestasis, pancreatitis crónica, enfermedad infiltrativa e inflamación intestinal deben considerarse en el aumento de las enzimas hepáticas en perros geriátricos (Radakovich et al., 2017).

Se observó un efecto significativo del sexo sobre la actividad enzimática de GGT, al ser mayor en hembras que en machos. En las mujeres, el estradiol tiene un efecto antioxidante y un nivel elevado de GGT en suero puede sugerir una reducción en el nivel de estradiol (Wassmann et al., 2001). Por lo tanto, un posible mecanismo del efecto del sexo GGT en perros podría estar relacionado con las hormonas sexuales. Sin embargo, requiere de mayores investigaciones.

6.6.2. Colesterol, glucosa, proteínas totales, albumina, globulinas y relación A/G.

Los valores de las proteínas totales y las globulinas tuvieron un efecto significativo de la edad, su concentración incrementó con el aumento de la edad. Otros investigadores, aunque no encontraron una diferencia significativa, reportan una tendencia ascendente en la concentración de proteínas totales en suero, además al igual que nuestro estudio mencionan un aumento significativo en la concentración de globulinas conforme avanza la edad (Radakovich et al., 2017). Otros investigadores reportan un nivel significativamente más bajo de proteínas totales en perros jóvenes en comparación con perros mayores (Lee et al., 2020) es decir que los valores de proteína aumentaron con la edad. El perfil de proteínas séricas proporciona información importante en diversas reacciones inflamatorias (Yoon et al., 2021). El aumento de las proteínas totales y globulinas, acompañado de una disminución en la concentración de albumina es una evidencia bioquímica sérica de inflamación (Radakovich et al., 2017).

Por otro lado, se observó una tendencia a disminuir con la edad en la concentración de albumina, la relación A/G y glucosa, aunque no se reportó una diferencia significativa.

Mientras que algunos investigadores demuestran significativamente que los perros que envejecen tienen concentraciones séricas de albumina (Chang et al., 2016; Puurunen et al., 2022; Radakovich et al., 2017; Willems et al., 2017) y glucosa disminuidas (Lee et al., 2020; Radakovich et al., 2017) este último sugiere que la competencia de almacenamiento de glucógeno en el hígado o la masa hepática funcional disminuye con la edad, por lo tanto se atribuye a la disminución de la concentración de glucosa. Por otro lado, la disminución de las concentraciones de albúmina generalmente es causada por inflamación aguda, daño hepático, inanición o caquexia, trastornos digestivos o enfermedades renales (Jania & Andraszek, 2016). En medicina humana un nivel bajo de albúmina predice una masa muscular deficiente y puede aumentar el riesgo de sarcopenia en los ancianos (Visser et al., 2005). Las proporciones A/G disminuidas resultan de una reducción en las concentraciones de albúmina y un aumento en las concentraciones de globulina (Asawakarn & Taweethavonsawat, 2021). En humanos se ha encontrado una correlación entre la función cognitiva y la relación A/G sérica en los habitantes mayores (Maeda et al., 2019). En un estudio anidado de casos y controles en habitantes de Japón, se informó que una relación A/G sérica baja está relacionada con el deterioro cognitivo (Koyama et al., 2016).

También en esta investigación se observó una tendencia creciente en la concentración de colesterol con el aumento de la edad, aunque no se demostró una diferencia estadísticamente significativa. Además, se identificó un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración del colesterol, al ser mayor en hembras que en machos. Una investigación reportó que los niveles de colesterol se elevaron más rápidamente después de los 8 años de edad y que las hembras tenían niveles de colesterol más altos que los machos (Puurunen et al., 2022). Un estudio previo también demostró que los perros mayores tienen una mayor concentración de colesterol (Radakovich et al., 2017). Esto podría relacionarse con la hiperlipidemia canina, debido a otros autores diagnosticaron al 33.3% de los perros envejecidos con este padecimiento (K Kawasumi et al., 2012).

6.6.3. Creatinina y relación BUN/creatinina.

Se observaron diferencias significativas con respecto al tamaño corporal sobre la concentración de creatinina y la relación BUN/creatinina. En los perros de tamaño pequeño la concentración de creatinina fue menor en comparación con los perros

grandes. Estudios previos han reportado niveles más bajos de creatinina en perros pequeños (Middleton et al., 2017). Mientras que la relación de BUN/creatinina fue mayor en perros de tamaño pequeño que en perros grandes. Algunas investigaciones han comprobado que los perros más pequeños tienen una TFG más alta y concentraciones de creatinina potencialmente más bajas debido a una masa muscular más pequeña (N. H. Bexfield et al., 2008; McKenna et al., 2020). Recientemente se ha demostrado que la creatinina sérica y el músculo magro se relacionan positivamente en perros clínicamente sanos (J. A. Hall et al., 2015).

6.6.4. Calcio y fósforo.

Por otro lado, los valores de calcio disminuyeron con la edad significativamente, mientras que la concentración del fósforo incremento con el aumento de la edad de manera significativa. Otros investigadores encontraron un aumento significativo de calcio y fósforo sérico en perros mayores en comparación con los adultos (Lavoue et al., 2014; Lee et al., 2020; Radakovich et al., 2017). Mientras que otros autores reportan una tendencia decreciente en los niveles de calcio (Pati et al., 2015). Nuestros resultados podrían relacionarse con un hipoparatiroidismo que ocurre cuando las glándulas producen muy poca hormona paratiroidea (PTH), los niveles de calcio en la sangre bajan y los niveles de fósforo se elevan. Aunque para llegar a este diagnóstico deben de excluirse otras causas de hipocalcemia, debido a que el hipoparatiroidismo es poco común en el perro, además es necesario medir la concentración de PTH, magnesio y vitamina D, que no estuvieron presentes en este estudio. Algunos autores reportan este padecimiento en el perro, acerca de su diagnóstico y tratamiento (Cardoso et al., 2015). Por otro lado, también podrían relacionarse con el tipo de alimentación, debido a que se ha demostrado que las dietas ricas en fosfatos inorgánicos puede conducir a un aumento del fosforo y a una disminución de calcio sérico, además estas dietas también mostraron un aumento de la isoenzima ósea de la FA (Dobenecker et al., 2021).

CONCLUSIONES

Es claro que el envejecimiento provoca cambios tanto físicos como funcionales en los perros, por tanto, es necesario evaluar dichos cambios conforme avanza la edad en el perro, para mejorar la interpretación de resultados y de esta manera obtener un diagnóstico y monitoreo oportuno del paciente envejecido. Además, es de suma importancia comprenderlos, tanto el clínico como el propietario de la mascota, para ayudar a mejorar la calidad de vida del perro. Y de esta manera obtener un envejecimiento saludable.

Para que esto sea posible es necesario realizar exámenes en el perro envejecido, que incluyan el uso de herramientas sensibles y específicas tal como la química sanguínea y la hematología, que a su vez esta última siempre se debe relacionar con el frotis sanguíneo. Además, al obtener un resultado, este debe de ir de la mano con el examen físico e historial clínico de cada paciente. Sin mencionar que existen otras herramientas diagnósticas que pueden aportar información complementaria de utilidad tales como la microscopía electrónica de barrido.

Y claro sobra decir que los intervalos de referencia específicos son un recurso que juegan un papel importante en la interpretación de los resultados obtenidos, los cuales son aportados por esta investigación. Finalmente, podemos decir que se trata de un conjunto de acciones y herramientas que nos ayude a detectar a tiempo padecimientos en el perro envejecido.

REFERENCIAS

- Adili, N., Melizi, M., & Belabbas, H. (2016). Species determination using the red blood cells morphometry in domestic animals. *Veterinary World*, *9*(9), 960–963.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.960-963>
- Adin, C. A., & Gilor, C. (2017). The diabetic dog as a translational model for human islet transplantation. *Yale Journal of Biology and Medicine*, *90*(3), 509–515.
- Aguilar, J. (2005). Modulo 1. Métodos y técnicas de diagnóstico. In *Diplomado a distancia en medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos* (pp. 25–63). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Al-Anesi, M. A., Abu-Seida, A. M., El Ashry, S. H., Mahran, A. H., & Abd-Elhamid, E. S. (2020). Influence of insulin on the healing of exposed dental pulp after pulp capping: An experimental study in a dog model. *Special Care in Dentistry*, *scd.12545*.
<https://doi.org/10.1111/scd.12545>
- Alberghina, D., Giannetto, C., Vazzana, I., Ferrantelli, V., & Piccione, G. (2011). Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy Cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *23*(1), 111–114. <https://doi.org/10.1177/104063871102300119>
- Aleixo, A. S. C., Alfonso, A., Fillippi, M. G., Chiacchio, S. B., & Lourenço, M. L. G. (2019). Retrospective study of allometric relationship between heart rate , electrocardiographic parameters. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *71*(06), 1800–1804. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10407>
- Alexander, J. E., Colyer, A., Haydock, R. M., Hayek, M. G., & Park, J. (2018). Understanding how dogs age: Longitudinal analysis of markers of inflammation, immune function, and oxidative stress. *Journals of Gerontology: Biological Sciences*, *0*(0), 720–728. <https://doi.org/10.1093/gerona/glx182>
- Ali, U., Gibbs, R., Knight, G., & Tsitsikas, D. (2019). Sex-divided reference intervals for mean platelet volume, platelet large cell ratio and plateletcrit using the Sysmex XN-10 automated haematology analyzer in a UK population. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, *41*(2), 153–157. <https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.09.005>
- Allison, R. W., & Meinkoth, J. H. (2007). Hematology Without the Numbers: In-Clinic Blood Film Evaluation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *37*(2), 245–266. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2006.10.002>

- Amador, E., & Urban, J. (1972). Simplified Serum Phosphorus Analyses by Continuous-Flow Ultraviolet Spectrophotometry. *Clinical Chemistry*, 18(7), 601–604.
<https://doi.org/10.1093/clinchem/18.7.601>
- Aniołek, O., Barc, A., Jarosińska, A., & Gajewski, Z. (2017). Evaluation of frequency and intensity of asymptomatic anisocytosis in the Japanese dog breeds Shiba, Akita, and Hokkaido. *Acta Veterinaria Brno*, 86(4), 385–391.
<https://doi.org/10.2754/avb201786040385>
- APPA. (2014). *2013-2014 National Pet Owners Survey*. American Pet Products Manufacturers Association.
- Arauz, M. S., Scodellaro, C. F., & Pintos, M. E. (2020). Atlas de hematología veterinaria. In *Libros de Cátedra*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP).
<https://doi.org/10.35537/10915/101193>
- Arnold, J. E., Camus, M. S., Freeman, K. P., Giori, L., Hooijberg, E. H., Jeffery, U., Korchia, J., Meindel, M. J., Moore, A. R., Sisson, S. C., Vap, L. M., & Cook, J. R. (2019). ASVCP Guidelines: Principles of quality assurance and standards for veterinary clinical pathology (version 3.0). *Veterinary Clinical Pathology*, 48(4), 542–618. <https://doi.org/10.1111/vcp.12810>
- Asawakarn, S., & Taweethavonsawat, P. (2021). Characterization of serum protein electrophoresis patterns and C-reactive protein in canine tick-borne diseases. *Veterinary World*, 14(8), 2150–2154. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2150-2154>
- Atyabi, N., Rahbarghazi, R., Araghi, A., & Nequouiejahromi, O. A. (2012). Haemoglobin typing and its variations in Iranian domestic dogs. *Comparative Clinical Pathology*, 21(6), 1515–1519. <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1322-4>
- Ávila, R. I. (2003). Impacto de la citomorfología hemática en el origen y desarrollo de las ciencias de la sangre. *Rev Oncol*, 5(1), 37–43. <https://doi.org/10.1007/BF02712840>
- Barger, A. M. (2010). Erythrocyte morphology. In W. J. Weiss DJ (Ed.), *Schalm's veterinary hematology* (6TH ed., pp. 144–151).
- Bates, J. A. (2008). Phosphorus: a quick reference. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38(3), 471–475.
- Batholomew, R., & Delaney, A. (1964). Spectrophotometric studies and analytical applications of the protein error of some pH indicators. *Proc. Australian Assoc. Clin. Biochem.*, 1, 64.

- Bellows, J., Colitz, C. M. H., Daristotle, L., Ingram, D. K., Lepine, A., Marks, S. L., Sanderson, S. L., Tomlinson, J., & Zhang, J. (2015). Defining healthy aging in older dogs and differentiating healthy aging from disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(1), 77–89.
<https://doi.org/10.2460/javma.246.1.77>
- 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.
[https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981\(80\)90105-9](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0009-8981(80)90105-9)
- Beust, B., & McInnes, E. F. (2019). Toxicologic veterinary clinical pathology—how is it different from diagnostic clinical pathology? *Comparative Clinical Pathology*, 28(1), 11–20. <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2731-4>
- Bexfield, N. (2020). Canine Inflammatory Liver Disease. In *Clinical Small Animal Internal Medicine* (pp. 695–704). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119501237.ch64>
- Bexfield, N. H., Heiene, R., Gerritsen, R. J., Risøen, U., Eliassen, K. A., Herrtage, M. E., & Michell, A. R. (2008). Glomerular filtration rate estimated by 3-sample plasma clearance of iohexol in 118 healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(1), 66–73. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.0035.x>
- Blount, D. G., Pritchard, D. I., & Heaton, P. R. (2005). Age-related alterations to immune parameters in Labrador retriever dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108(3–4), 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.06.015>
- Blumenreich, M. (1990). The white blood cell and differential count. In *Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations*. (3rd ed.). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK261/>
- Bonfanti, U., Comazzi, S., Paltrinieri, S., & Bertazzolo, W. (2004). Stomatocytosis in 7 related Standard Schnauzers. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(4), 234–239.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00379.x>
- Bossa-Miranda, M. A., Valencia-Celis, V. del C., Carvajal-Giraldo, B. A., & Ríos-Osorio, L. A. (2012). Automated hemogram values for healthy dogs aged 1 to 6 years attended at the Veterinary Hospital - Universidad de Antioquia (Colombia), 2002-2009. In *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* (Vol. 25, pp. 409–416). scieloco.
- Bourgès-Abella, N. H., Gury, T. D., Geffré, A., Concordet, D., Thibault-Duprey, K. C., Dauchy, A., & Trumel, C. (2015). Reference intervals, intraindividual and

interindividual variability, and reference change values for hematologic variables in laboratory beagles. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, 54(1), 17–24.

- Bowers, G. N., Bergmeyer, H. U., Horder, M., & Moss, D. W. (1979). International Federation of Clinical Chemistry. Committee on Standards. Expert Panel on Enzymes. Approved recommendation (1978) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 1. General considerations concerning the determ. *Clinical Chimica Acta TA - Clin Chim, Acta*, 98(1–2), 163F-174F.
- Brenten, T., Morris, P. J., Salt, C., Raila, J., Kohn, B., Schweigert, F. J., & Zentek, J. (2016). Age-associated and breed-associated variations in haematological and biochemical variables in young labrador retriever and miniature schnauzer dogs. *Veterinary Record Open*, 3(e000166), 1-9. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2015-000166>
- Brun-Hansen, H. C., Kampen, A. H., & Lund, A. (2006). Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(2), 182–187. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00111.x>
- Bruno, F., Balbuena, M. de S., Emídio, T., Rios, N., Pereira, F., Souza, M. de., & Coelho, C. de P. (2022). Relationship between hematological and biochemical tests and senility in dogs. *Research, Society and Development*, 11(7), 1–8. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.29568>
- Budak, Y. U., Polat, M., & Huysal, K. (2016). The use of platelet indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: a systematic review. *Biochemia Medica*, 26(2), 178–193.
- Cardoso, M. J. L., Melussi, M., Costa, F. S., Fagnani, R., Holsback, L., Zacarias Júnior, A., & Patelli, T. H. C. (2015). Canine hypoparathyroidism: Case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 67(2), 353–357. <https://doi.org/10.1590/1678-6814>
- Carmona-Fonseca, J. (2003). Valores de referencia de hemoglobina y hematocrito en una población laboral colombiana. *Acta Médica Colombiana*, 28(2), 63–70. <http://www.actamedicacolombiana.com/anexo/articulos/02-2003-03.pdf>
- Cervantes, S. (2012). *Geriatría canina y felina: manuales clínicos por especialidades*. Servet editorial - Grupo Asís Biomedica S.L.
- Chandrashekar, V. (2013). Plateletcrit as a screening tool for detection of platelet

- quantitative disorders. *Journal of Hematology*, 2(1), 22–26.
- Chang, Y.-M., Hadox, E., Szlodovits, B., & Garden, O. A. (2016). Serum biochemical phenotypes in the domestic dog. *Plos One*, 11(2), e0149650.
- Chapagain, D., Range, F., Huber, L., & Virányi, Z. (2018). Cognitive Aging in Dogs. *Gerontology*, 64(2), 165–171. <https://doi.org/10.1159/000481621>
- Chew, B.-H. (2019). Planning and Conducting Clinical Research: The Whole Process. *Cureus*, 11(2), e4112. <https://doi.org/10.7759/cureus.4112>
- Christian, J. A. (2010). Erythrokinetics and erythrocyte destruction. In W. J. Weiss DJ (Ed.), *Schalm's veterinary hematology* (6th ed., pp. 136–143). Wiley-Blackwell.
- Chung, S., Chang, L., & Cheng, T. (2016). Establishing in-house reference intervals for dogs in veterinary clinics. *Taiwan Veterinary Journal*, 42(2), 53–67. <https://doi.org/10.1142/S1682648515500225>
- Cicoli, L., De Felice, C., Paccagnini, E., Leoncini, S., Pecorelli, A., Signorini, C., Belmonte, G., Guerranti, R., Cortelazzo, A., Gentile, M., Zollo, G., Durand, T., Valacchi, G., Rossi, M., & Hayek, J. (2013). Erythrocyte shape abnormalities, membrane oxidative damage, and β -actin alterations: An unrecognized triad in classical autism. *Mediators of Inflammation*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/432616>
- Connerty, H. V., & Briggs, A. R. (1966). Determination of serum calcium by means of orthocresolphthalein complexone. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 290–296.
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. B. T. (2017). 9 - Diseases of the liver. In *Veterinary Medicine* (Eleventh, pp. 622–656). W.B. Saunders. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5246-0.00009-7>
- Cooley, D. M., Schlittler, D. L., Glickman, L. T., Hayek, M., & Waters, D. J. (2003). Exceptional longevity in pet dogs is accompanied by cancer resistance and delayed onset of major diseases. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 58(12), B1078–B1084.
- Cortez-Aguirre, G. R., Jiménez-Coello, M., Gutiérrez-Blanco, E., & Ortega-Pacheco, A. (2018). Stray dog population in a city of southern Mexico and its impact on the contamination of public areas. *Veterinary Medicine International*, 2018, 2381583. <https://doi.org/10.1155/2018/2381583>
- Cowell, Rick L., Tyler, R. D., Meinkoth, J. H., & DeNicola, D. B. (2009). *Diagnostic citology*

- and hematology of the dog and cat* (3rd ed.). Elsevier.
- Coyne, M., Szlosek, D., Clements, C., McCrann 3rd, D., & Olavessen, L. (2020). Association between breed and renal biomarkers of glomerular filtration rate in dogs. *The Veterinary Record*, *187*(10), e82–e82. <https://doi.org/10.1136/vr.105733>
- Creevy, K. E., Akey, J. M., Kaeberlein, M., & Promislow, D. E. L. (2022). An open science study of ageing in companion dogs. *Nature*, *602*(7895), 51–57. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04282-9>
- Cugmas, B., Šušterič, P., Gorenjec, N. R., & Plavec, T. (2020). Comparison between rectal and body surface temperature in dogs by the calibrated infrared thermometer. *Veterinary and Animal Science*, *9*, 100120. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100120>
- da Costa, J. P., Vitorino, R., Silva, G. M., Vogel, C., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2016). A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Research Reviews*, *29*, 90–112. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.06.005>
- Da Silva, A. S., Hoehne, L., Tonin, A. A., Zanette, R. A., Wolkmer, P., Costa, M. M., Moraes, D. P., Flores, É. M. M., Santurio, J. M., & Lopes, S. T. A. (2009). Trypanosoma evansi: Levels of copper, iron and zinc in the bloodstream of infected cats. *Experimental Parasitology*, *123*(1), 35–38.
- Daleke, D. L. (2003). Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *Journal of Lipid Research*, *44*(2), 233–242. <https://doi.org/10.1194/jlr.R200019-JLR200>
- Davies, M. (2007). *Geriatría canina y felina* (1ra ed.). Acribia S. A.
- Day, M. J. (2010). Ageing, immunosenescence and inflammaging in the dog and cat. *Journal of Comparative Pathology*, *142* Suppl, S60-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.10.011>
- Demetriou, J. A., Drewes, P. A., & Gin, J. B. (1974). Principles and Technics. In H. Row (Ed.), *Clinical Chemistry* (2nd ed., pp. 872–873).
- DeNicola, D. B. (2008). *Blood film cytology-Red blood cell morfologic changes; Clue to the cause of anemia and diagnostic direction to possible organ dysfunction*. 109–110.
- Dewey, C. W., Davies, E. S., Xie, H., & Wakshlag, J. J. (2019). Canine cognitive dysfunction: Pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *49*(3), 477–499. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.01.013>
- Dobenecker, B., Kienzle, E., & Siedler, S. (2021). The source matters-effects of high

- phosphate intake from eight different sources in dogs. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, 11(12), 3456. <https://doi.org/10.3390/ani11123456>
- Dotson, M. J., & Hyatt, E. M. (2008). Understanding dog–human companionship. *Journal of Business Research*, 61(5), 457–466.
- Duncan, J., & Hartley, L. (2000a). Blood Smear Examination: Abnormal Cells. *Veterinary Nursing Journal*, 15(6), 231–234. <https://doi.org/10.1080/17415349.2000.11013049>
- Duncan, J., & Hartley, L. (2000b). Blood Smear Examination: Normal Cells. *Veterinary Nursing Journal*, 15(5), 183–186. <https://doi.org/10.1080/17415349.2000.11013043>
- Eckersall, P. (2008). Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In B. M. In: Kaneko JJ, Harvey JW (Ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed., pp. 117–155). Elsevier Academic Press.
- Edwards, P. T., Smith, B. P., McArthur, M. L., & Hazel, S. J. (2022). At the heart of a dog’s veterinary experience: Heart rate responses in dogs vary across a standard physical examination. *Journal of Veterinary Behavior*, 51, 23–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jveb.2022.03.003>
- Epstein, M., Kuehn, N. F., Landsberg, G., Lascelles, B. D. X., Marks, S. L., Schaedler, J. M., & Tuzio, H. (2005). AAHA senior care guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 41(2), 81–91. <https://doi.org/10.5326/0410081>
- Estrada, L. D., Ahumada, P., Cabrera, D., & Arab, J. P. (2019). Liver dysfunction as a novel player in alzheimer’s progression: Looking outside the brain. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 11). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2019.00174>
- Fan, R., Olbricht, G., Baker, X., & Hou, C. (2016). Birth mass is the key to understanding the negative correlation between lifespan and body size in dogs. *Aging*, 8(12), 3209–3222. <https://doi.org/10.18632/aging.101081>
- Fast, R., Schütt, T., Toft, N., Møller, A., & Berendt, M. (2013). An observational study with long-term follow-up of canine cognitive dysfunction: Clinical characteristics, survival, and risk factors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(4), 822–829. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jvim.12109>
- Fefer, G., Panek, W. K., Khan, M. Z., Singer, M., Westermeyer, H. D., Mowat, F. M., Murdoch, D. M., Case, B., Olby, N. J., & Gruen, M. E. (2022). Use of cognitive testing, questionnaires, and plasma biomarkers to quantify cognitive impairment in an aging pet dog population. *Journal of Alzheimer’s Disease : JAD*, 87(3), 1367–1378.

<https://doi.org/10.3233/JAD-215562>

- Ferasin, L., Ferasin, H., & Little, C. J. L. (2010). Lack of correlation between canine heart rate and body size in veterinary clinical practice. *Journal of Small Animal Practice*, 51(8), 412–418. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00954.x>
- Fischer, E. R., Hansen, B. T., Nair, V., Hoyt, F. H., & Dorward, D. W. (2012). Scanning electron microscopy. *Current Protocols in Microbiology, Chapter 2*, Unit2B.2-2B.2. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc02b02s25>
- Fleyshman, D. I., Wakshlag, J. J., Huson, H. J., Loftus, J. P., Olby, N. J., Brodsky, L., Gudkov, A. V., & Andrianova, E. L. (2021). Development of infrastructure for a systemic multidisciplinary approach to study aging in retired sled dogs. *Aging*, 13(18), 21814–21837. <https://doi.org/10.18632/aging.203600>
- Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35(3), 351–357. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12082>
- Fortney, W. D. (2012). Implementing a successful senior/geriatric health care program for veterinarians, veterinary technicians, and office managers. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 42(4), 823–834, viii. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.011>
- Foucauld, M. (1966). *El nacimiento de la clínica. Una arqueología de la mirada médica. siglo XXI*.
- Freeman, L., Becvarova, I., Cave, N., MacKay, C., Nguyen, P., Rama, B., Takashima, G., Tiffin, R., Tsjimoto, H., & van Beukelen, P. (2011). WSAVA Nutritional Assessment Guidelines. *The Journal of Small Animal Practice*, 52(7), 385-396. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01079.x>
- Friedrichs, K. R., Harr, K. E., Freeman, K. P., Szladovits, B., Walton, R. M., Barnhart, K. F., & Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 441-453. <https://doi.org/10.1111 / vcp.12006>.
- Frye, C., Carr, B. J., Lenfest, M., & Miller, A. (2022). Canine geriatric rehabilitation: Considerations and strategies for assessment, functional scoring, and follow up. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 842458. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.842458>
- Garden, O. A., Kidd, L., Mexas, A. M., Chang, Y., Jeffery, U., Blois, S. L., Fogle, J. E., MacNeill, A. L., Lubas, G., Birkenheuer, A., Buoncompagni, S., Dandrieux, J. R. S., Di Loria, A., Fellman, C. L., Glanemann, B., Goggs, R., Granick, J. L., LeVine, D. N.,

- Sharp, C. R., ... Szladovits, B. (2019). ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 313–334. <https://doi.org/10.1111/jvim.15441>
- Gates, M. C., Hinds, H. J., & Dale, A. (2017). Preliminary description of aging cats and dogs presented to a New Zealand first-opinion veterinary clinic at end-of-life. *New Zealand Veterinary Journal*, 65(6), 313–317. <https://doi.org/10.1080/00480169.2017.1360161>
- Gavazza, A., Ricci, M., Brettoni, M., Gugliucci, B., Pasquini, A., Rispoli, D., Bernabò, N., & Lubas, G. (2014). Retrospective and prospective investigations about “quatrefoil” erythrocytes in canine blood smears. *Veterinary Medicine International*, 2014, 409573. <https://doi.org/10.1155/2014/409573>
- Geffré, A., Concordet, D., Braun, J.-P., & Trumel, C. (2011). Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(1), 107-112. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00287.x>
- Gislefoss, R. E., Lauritzen, M., Langseth, H., & Mørkrid, L. (2017). Effect of multiple freeze-thaw cycles on selected biochemical serum components. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 55(7), 967-973. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0892>
- Goessling, W., Massaro, J. M., Vasan, R. S., D’Agostino Sr, R. B., Ellison, R. C., & Fox, C. S. (2008). Aminotransferase Levels and 20-Year Risk of Metabolic Syndrome, Diabetes, and Cardiovascular Disease. *Gastroenterology*, 135(6), 1935-1944.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.09.018>
- Goldsmith, T. C. (2012). On the programmed/non-programmed aging controversy. *Biochemistry (Moscow)*, 77(7), 729–732.
- Goldston, R. T., & Hoskins, J. D. (1997). *Geriatría y Gerontología del perro y el gato* (1st ed., pp. 2–15). Inter-médica editorial.
- Golebiewska, E. M., & Poole, A. W. (2015). Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Reviews*, 29(3), 153–162.
- Gomart, S. B., Allerton, F. J. W., & Gommeren, K. (2014). Accuracy of different temperature reading techniques and associated stress response in hospitalized dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 24(3), 279–285. <https://doi.org/10.1111/vec.12155>
- González-Martínez, Á., Rosado, B., Pesini, P., Suárez, M.-L., Santamarina, G., García-

- Belenguer, S., Villegas, A., Monleón, I., & Sarasa, M. (2011). Plasma β -amyloid peptides in canine aging and cognitive dysfunction as a model of Alzheimer's disease. *Experimental Gerontology*, 46(7), 590–596.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.exger.2011.02.013>
- Grandía G, R., Fuentes S, R., Pérez P, J., Hernández A, J., Castillo E, M., Anicama A, W., Caballero C, J., Rojas C, L., Galindo J, I., Díaz M, L., & Fimia-Duarte, R. (2019). Hematological findings in dogs and cats in Lima, Peru. In *Journal of Veterinary Research of Peru* (Vol. 30, pp. 1395–1413). scielo.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.17154>
- Grauer, G. F. (2005). Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 35(3), 581–596.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.12.013>
- Greco, D. S. (2018). Diabetes mellitus in animals: diagnosis and treatment of diabetes mellitus in dogs and cats. In D. Bagchi & S. B. T.-N. and T. I. for D. and M. S. (Second E. Nair (Eds.), *Nutritional and Therapeutic Interventions for Diabetes and Metabolic Syndrome* (Second, pp. 507–517). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812019-4.00037-4>
- Greer, J. (2014). *Wintrobe's clinical hematology* (J. P. Greer, D. A. Arber, B. Glader, A. F. List, R. T. Means Jr, F. Paraskevas, G. M. Rodgers, & J. . Foerster (eds.); 13th ed.). Philadelphia : Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins Health.
- Guner, E., & Seker, K. G. (2020). La relación albúmina/globulina preoperatoria como factor pronóstico en pacientes con cáncer testicular. *Actas Urológicas Españolas*, 44(7), 469–476. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.acuro.2020.03.011>
- Gunn-christie, R. G., Flatland, B., Friedrichs, K. R., Szladovits, B., Harr, K. E., Ruotsalo, K., Knoll, J. S., Wamsley, H. L., & Freeman, K. P. (2012). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(1), 18-26. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2012.00412.x>
- Gutiérrez Robledo, L. M., & Lozano Ascencio, R. (1996). Editorial. *Salud Pública De México*, 38(6), 405–406. <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/5951>
- Guzmán, F., & Arias, C. A. (2012). La historia clínica: elemento fundamental del acto médico. In *Revista Colombiana de Cirugía Plástica* (Vol. 27).
- Habiba, U., Ozawa, M., Chambers, J. K., Uchida, K., Descallar, J., Nakayama, H.,

- Summers, B. A., Morley, J. W., & Tayebi, M. (2021). Neuronal Deposition of Amyloid- β Oligomers and Hyperphosphorylated Tau Is Closely Connected with Cognitive Dysfunction in Aged Dogs. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 5(1), 749–760. <https://doi.org/10.3233/ADR-210035>
- Haldane, S. L., & Davis, R. M. (2009). Acute toxicity in five dogs after ingestion of a commercial snail and slug bait containing iron EDTA. *Australian Veterinary Journal*, 87(7), 284–286.
- Hall, E. J., & Carter, A. (2017). Establishing a reference range for normal canine tympanic membrane temperature measured with a veterinary aural thermometer. *Veterinary Nursing Journal*, 32(12), 369–373. <https://doi.org/10.1080/17415349.2017.1377133>
- Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Melendez, L. D., & Jewell, D. E. (2015). Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(3), 808–814. <https://doi.org/10.1111/jvim.12607>
- Hankins, J. (2006). The role of albumin in fluid and electrolyte balance. *Journal of Infusion Nursing*, 29(5). https://journals.lww.com/journalofinfusionnursing/Fulltext/2006/09000/The_Role_of_Albumin_in_Fluid_and_Electrolyte.4.aspx
- Harman, D. (1981). The aging process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(11), 7124–7128.
- Harper, E. J., Hackett, R. M., Wilkinson, J., & 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. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.1436>
- Harvey, J. W. (2008). *Chapter 9 - Iron Metabolism and Its Disorders* (J. J. Kaneko, J. W. Harvey, & M. L. B. T.-C. B. of D. A. (Sixth E. Bruss (eds.); pp. 259–285). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00009-X>
- Harvey, J.W. (2008). The erythrocyte: Physiology, metabolism and biochemical disorders. In B. M. Kaneko JJ, Harvey JW (Ed.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed., pp. 173–240). Academic Press.
- Harvey, John W. (2012). Veterinary Hematology: A diagnostic guide and color atlas. In *Journal of Small Animal Practice* (Vol. 54, Issue 12). Elsevier. <https://doi.org/10.1111/jsap.12016>

- Hezzell, M. J., Dennis, S. G., Humm, K., Agee, L., & Boswood, A. (2013). Relationships between heart rate and age, bodyweight and breed in 10,849 dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 54(6), 318–324. <https://doi.org/10.1111/jsap.12079>
- Hoffman, J. M., Creevy, K. E., & Promislow, D. E. L. (2013). Reproductive capability is associated with lifespan and cause of death in companion dogs. *PloS One*, 8(4), e61082.
- Hoffman, J. M., O'Neill, D. G., Creevy, K. E., & Austad, S. N. (2018). Do female dogs age differently than male dogs? *The Journals of Gerontology: Series A*, 73(2), 150–156.
- Hong, H., Xiao, W., & Maitta, R. W. (2014). Steady increment of immature platelet fraction is suppressed by irradiation in single-donor platelet components during storage. *PLOS ONE*, 9(1), e85465. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085465>
- Hoskins, J. D. (1988). *Preventive health program for dogs*. (pp. 187–192). Comp Cont. Educ Pact. Vet.
- Hoskins, J. D., & Fortney, W. F. (2004). *Geriatrics and aging*. In: *Geriatrics and gerontology of the dog and cat* (2nd ed., pp. 1–4). WB Saunders.
- INEGI. (2021). *Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado (ENBIARE)* (pp. 1–26). https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/ENBIARE_2021.pdf
- 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.
- Jania, B., & Andraszek, K. (2016). Application of native agarose gel electrophoresis of serum proteins in veterinary diagnostics. *Journal of Veterinary Research*, 60(4), 501–508.
- JEOL. (2001). *Application notes. Specimen preparation methods for scanning electron microscopes*. (pp. 1–22).
- Jin, H., Xing, X., Zhao, H., Chen, Y., Huang, X., Ma, S., Ye, H., & Cai, J. (2010). Detection of erythrocytes influenced by aging and type 2 diabetes using atomic force microscope. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 391(4), 1698–1702. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.12.133>
- Jurado G, H., Castaño Z, D., & Ramírez T, C. (2011). Evaluación de *Lactobacillus plantarum* en intestino grueso de lechones por microscopía electrónica y química sanguínea . In *Revista MVZ Córdoba* (Vol. 16, pp. 2538–2548). scieloco .
- Kahng, E., & Brundage, C. (2020). Comparing alternatives to canine rectal thermometry at

- the axillary, auricular and ocular locations. *Open Veterinary Journal*, 9(4), 301–308.
<https://doi.org/10.4314/ovj.v9i4.4>
- Kaser, A., Brandacher, G., Steurer, W., Kaser, S., Offner, F. A., Zoller, H., Theurl, I., Widder, W., Molnar, C., Ludwiczek, O., Atkins, M. B., Mier, J. W., & Tilg, H. (2001). Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*, 98(9), 2720–2725. <https://doi.org/10.1182/blood.v98.9.2720>
- Katayev, A., Balciza, C., & 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. <https://doi.org/10.1309 / AJCPN5BMTSF1CDYP>.
- Kawasumi, K, Suzuki, T., Fujiwara, M., Mori, N., Yamamoto, I., & Arai, T. (2012). New criteria of hyperlipidemia with insulin resistance in dogs. *J Anim Vet Adv*, 11, 3950–3952.
- Kawasumi, Koh, Kashiwado, N., Okada, Y., Sawamura, M., Sasaki, Y., Iwazaki, E., Mori, N., Yamamoto, I., & Arai, T. (2014). Age effects on plasma cholesterol and triglyceride profiles and metabolite concentrations in dogs. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 57. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-57>
- Khan, R. M. (2013a). Chapter 3 - Basic statistics. In *Problem solving and data analysis using Minitab* (pp. 50-70.). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/doi:10.1002/9781118307502.ch3>
- Khan, R. M. (2013b). Chapter 5 - Analysis of variance. In *Problem solving and data analysis using Minitab* (pp. 150-208.). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/doi:10.1002/9781118307502.ch5>
- 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.
- Konietschke, U., Kruse, B. D., Müller, R., Stockhaus, C., Hartmann, K., & Wehner, A. (2014). Comparison of auricular and rectal temperature measurement in normothermic, hypothermic, and hyperthermic dogs TT - Vergleich zwischen aurikularer und rektaler Temperaturmessung bei normothermen, hypothermen und hyperthermen Hunden. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, 42(01), 13–19.
- Koyama, T., Kuriyama, N., Ozaki, E., Matsui, D., Watanabe, I., Miyatani, F., Kondo, M., Tamura, A., Kasai, T., Ohshima, Y., Yoshida, T., Tokuda, T., Mizuta, I., Mizuno, S.,

- Yamada, K., Takeda, K., Matsumoto, S., Nakagawa, M., Mizuno, T., & Watanabe, Y. (2016). Serum albumin to globulin ratio is related to cognitive decline via reflection of homeostasis: a nested case-control study. *BMC Neurology*, *16*(1), 253.
<https://doi.org/10.1186/s12883-016-0776-z>
- Kraus, C., Pavard, S., & Promislow, D. E. L. (2013). The size–life span trade-off decomposed: Why large dogs die young. *The American Naturalist*, *181*(4), 492–505.
<https://doi.org/10.1086/669665>
- Kriete, A., Sokhansanj, B. A., Coppock, D. L., & West, G. B. (2006). Systems approaches to the networks of aging. *Ageing Research Reviews*, *5*(4), 434–448.
- Kruk, P. A., Rampino, N. J., & Bohr, V. A. (1995). DNA damage and repair in telomeres: relation to aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *92*(1), 258–262.
- Kulasekaran, S., Sheeba, F., Mammen, J. J., Saivigneshu, B., & Mohankumar, S. (2015). Morphology based detection of abnormal red blood cells in peripheral blood smear images. In L. C. Goh J. (Ed.), *7th WACBE World Congress on Bioengineering* (Vol. 52). Springer, Cham. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-19452-3_16
- Kumar, S. (2017). Short Communication: Trypanosomosis in dog - A case report. *Exploratory Animal and Medical Research*, *7*(2), 220–222.
- Kumiega, E., Michałek, M., Kasztura, M., & Noszczyk-Nowak, A. (2020). Analysis of red blood cell parameters in dogs with various stages of degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, *64*(2), 325–332.
<https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0043>
- Laflamme, D. P. (2012). Nutritional care for aging cats and dogs. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, *42*(4), 769–791, vii.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.002>
- Lamb, A. P., Meurs, K. M., & Hamlin, R. L. (2010). Correlation of heart rate to body weight in apparently normal dogs. *Journal of Veterinary Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, *12*(2), 107–110.
<https://doi.org/10.1016/j.jvc.2010.04.001>
- Lanaux, T. M., Rozanski, E. A., Simoni, R. S., Price, L. L., Buckley, G. J., Stockman, C., & Knoll, J. S. (2011). Interpretation of canine and feline blood smears by emergency room personnel. *Veterinary Clinical Pathology*, *40*(1), 18–23.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2010.00280.x>
- Landsberg, G. M., Nichol, J., & Araujo, J. A. (2012). Cognitive dysfunction syndrome: a

disease of canine and feline brain aging. *The Veterinary Clinics of North America.*

Small Animal Practice, 42(4), 749–768, vii.

<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.003>

Larsen, J. A., & Farcas, A. (2014). Nutrition of aging dogs. *The Veterinary Clinics of North*

America. Small Animal Practice, 44(4), 741–759, vi.

<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.03.003>

Lavoue, R., Geffre, A., Braun, J. P., Peeters, D., Granat, F., Bourges-Abella, N., & Trumel,

C. (2014). Breed-specific hematologic reference intervals in healthy adult Dogues de
Bordeaux. *Veterinary Clinical Pathology*, 43(3), 352–361.

<https://doi.org/10.1111/vcp.12151>

Lawrence, J., Chang, Y.-M. R., Szladovits, B., Davison, L. J., & Garden, O. A. (2013).

Breed-specific hematological phenotypes in the dog: a natural resource for the
genetic dissection of hematological parameters in a mammalian species. *PloS One*,

8(11), e81288. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081288>

Leal Mora, D., Flores Castro, M., & Barboa García, C. (2006). La geriatría en México.

Investigación de Salud, VIII(3), 185–190.

<https://www.medigraphic.com/pdfs/invsal/isg-2006/isg063h.pdf>

Lee, S. H., Kim, J. W., & Lee, B. C. (2020). Age-specific variations in hematological and

biochemical parameters in middle- and large-sized of dogs. *Journal of Veterinary*

Science, 21(1), 1-13. <https://doi.org/https://doi.org/10.4142/jvs.2020.21.e7>

Lees, G. E. (2004). Early diagnosis of renal disease and renal failure. *Vet Clin Small Anim*,

34, 867–885. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.03.004>

Lesik, S. A. (2018). *Applied statistical inference with MINITAB®* (Second Edi). A Chapman

and Hall/CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429444951>

Libow, L. S. (1990). From Nascher to now. Seventy-five years of United States geriatrics.

Journal of the American Geriatrics Society, 38(1), 79–83.

<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1990.tb01603.x>

Lippi, G., Pavesi, F., & Pipitone, S. (2015). Evaluation of mean platelet volume with four

hematological analyzers: harmonization is still an unresolved issue. *Blood*
Coagulation & Fibrinolysis, 26(2).

https://journals.lww.com/bloodcoagulation/Fulltext/2015/03000/Evaluation_of_mean_platelet_volume_with_four.25.aspx

Llauger, L., Jacob, J., & Miró, Ò. (2018). Función renal y pronóstico de los episodios de

insuficiencia cardiaca aguda. *Medicina Clínica*, 151(7), 281–290.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.05.010>

López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell*, 153(6), 1194–1217.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>

Lowseth, L. A., Gillett, N. A., Gerlach, R. F., & Muggenburg, B. A. (1990). The effects of aging on hematology and serum chemistry values in the beagle dog. *Veterinary Clinical Pathology*, 19(1), 13–19. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.1990.tb00535.x>

Loyola-Leyva, A., Alcántara-Quintana, L. E., Terán-Figueroa, Y., & González, F. J. (2022). In vitro effect of high glucose concentrations on erythrocyte morphology assessed by scanning electron microscopy. *Micron*, 154, 103179.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micron.2021.103179>

Loyola-Leyva, A., Loyola-Rodríguez, J. P., Atzori, M., & Gonzalez, F. J. (2018). Morphological changes in erythrocytes of people with type 2 diabetes mellitus evaluated with atomic force microscopy: A brief review. *Micron (Oxford, England : 1993)*, 105, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2017.11.001>

Loyola-Leyva, A., Loyola-Rodríguez, J. P., Terán-Figueroa, Y., González, F. J., Atzori, M., & Camacho-Lopez, S. (2020). Hypercholesterolemia associated with erythrocytes morphology assessed by scanning electron microscopy in metabolically unhealthy individuals with normal-weight and obesity. *Obesity Medicine*, 20, 100292.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.obmed.2020.100292>

Loyola-Leyva, A., Loyola-Rodríguez, J. P., Terán-Figueroa, Y., González, F. J., Atzori, M., & Barquera Cervera, S. (2019). Altered erythrocyte morphology in Mexican adults with prediabetes and type 2 diabetes mellitus evaluated by scanning electron microscope. *Microscopy*, 68(3), 261–270. <https://doi.org/10.1093/jmicro/dfz011>

Madari, A., Farbakova, J., Katina, S., Smolek, T., Novak, P., Weissova, T., Novak, M., & Zilka, N. (2015). Assessment of severity and progression of canine cognitive dysfunction syndrome using the CAanine DEmentia Scale (CADES). *Applied Animal Behaviour Science*, 171, 138–145.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.08.034>

Maeda, S., Takeya, Y., Oguro, R., Akasaka, H., Ryuno, H., Kabayama, M., Yokoyama, S., Nagasawa, M., Fujimoto, T., Takeda, M., Onishi-Takeya, M., Itoh, N., Takami, Y., Yamamoto, K., Sugimoto, K., Inagaki, H., Ogawa, M., Nakagawa, T., Yasumoto, S.,

- ... Rakugi, H. (2019). Serum albumin/globulin ratio is associated with cognitive function in community-dwelling older people: The septuagenarians, octogenarians, nonagenarians investigation with centenarians study. *Geriatrics & Gerontology International*, 19(10), 967–971. <https://doi.org/10.1111/ggi.13751>
- Maksimov, G. V, Mamaeva, S. N., Antonov, S. R., Munkhalova, Y. A., Kononova, I. V, & Sheikin, I. Y. (2016). Measuring erythrocyte morphology by electron microscopy to diagnose hematuria. *Measurement Techniques*, 59(3), 327–330. <https://doi.org/10.1007/s11018-016-0966-5>
- Martinez, J. de D., Valdivia, A. G., Ortiz, R., Damián, F. J., Range, F. D., & Guadalupe, D. H. L. (2005). *La población canina en la ciudad de Aguascalientes* (pp. 1–14). Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Mazzatenta, A., Carluccio, A., Robbe, D., Giulio, C. Di, & Cellerino, A. (2017). The companion dog as a unique translational model for aging. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 70, 141–153. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.08.024>
- McCune, S., Kruger, K. A., Griffin, J. A., Esposito, L., Freund, L. S., Hurley, K. J., & Bures, R. (2014). Evolution of research into the mutual benefits of human–animal interaction. *Animal Frontiers*, 4(3), 49–58. <https://doi.org/10.2527/af.2014-0022>
- McCune, S., & Promislow, D. (2021). Healthy, active aging for people and dogs. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 8). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2021.655191>
- McKenna, M., Pelligand, L., Elliott, J., Walker, D., & Jepson, R. (2020). Clinical utility of estimation of glomerular filtration rate in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(1), 195–205. <https://doi.org/10.1111/jvim.15561>
- McKenzie, B. A., Chen, F. L., Gruen, M. E., & Olby, N. J. (2022). Canine geriatric syndrome: A framework for advancing research in veterinary geroscience. In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 9). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2022.853743>
- Mehrkam, L. R., & Wynne, C. D. L. (2014). Behavioral differences among breeds of domestic dogs (*Canis lupus familiaris*): Current status of the science. *Applied Animal Behaviour Science*, 155, 12–27. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.03.005>
- Metzger, F. L. (2005). Senior and Geriatric Care Programs for Veterinarians. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 35(3), 743–753.

- <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.12.005>
- Metzger, F. L., & Rebar, A. H. (2012). Clinical pathology interpretation in geriatric veterinary patients. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42(4), 615–629. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.004>
- Meyer, D. J., & Harvey, J. W. (2000). *El laboratorio en medicina veterinaria: interpretación & diagnóstico*. Inter-médica.
- Middleton, R. P., Lacroix, S., Scott-Boyer, M.-P., Dordevic, N., Kennedy, A. D., Slusky, A. R., Carayol, J., Petzinger-Germain, C., Beloshapka, A., & Kaput, J. (2017). Metabolic differences between dogs of different body sizes. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2017, 4535710. <https://doi.org/10.1155/2017/4535710>
- Misbach, C., Chetboul, V., Concordet, D., Medaille, C., Gruet, P., Speranza, C., Hoffmann, A. C., Rocha, A., Balouka, D., Petit, A. M., Trehiou-Sechi, E., Pouchelon, J. L., & 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. <https://doi.org/10.1111/vcp.12162>
- Montoya Navarrete, A. L., Quezada Tristán, T., Lozano Santillán, S., Ortiz Martínez, R., Valdivia Flores, A. G., Martínez Martínez, L., & De Luna López, M. C. (2021). Effect of age, sex, and body size on the blood biochemistry and physiological constants of dogs from 4 wk. to > 52 wk. of age. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 265. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02976-w>
- Morales, M. J. (2009). *Veterinary Hemocytology Atlas* (2da ed., pp. 4–94). SERVET.
- Murphy, L., Nakamura, R., Gentile-Solomon, J., Spake, A., & Szlosek, D. (2022). Assessment of age, gender, and anxiety on ECG waveform morphology in a large population of domestic dogs. *Scientific Reports*, 12(1), 7339. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11378-3>
- Ndrepepa, G., Holdenrieder, S., Bernlochner, I., & Kastrati, A. (2021). Influence of body size on platelet response to ticagrelor and prasugrel in patients with acute coronary syndromes. *Clinical Research in Cardiology*. <https://doi.org/10.1007/s00392-021-01976-y>
- Neilson, J. C., Hart, B. L., Cliff, K. D., & Ruehl, W. W. (2001). Prevalence of behavioral changes associated with age-related cognitive impairment in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(11), 1787–1791.

- Nho, K., Kueider-Paisley, A., Ahmad, S., MahmoudianDehkordi, S., Arnold, M., Risacher, S. L., Louie, G., Blach, C., Baillie, R., Han, X., Kastenmüller, G., Trojanowski, J. Q., Shaw, L. M., Weiner, M. W., Doraiswamy, P. M., van Duijn, C., Saykin, A. J., Kaddurah-Daouk, R., & Consortium, for the A. D. N. I. and the A. D. M. (2019). Association of altered liver enzymes with alzheimer disease diagnosis, cognition, neuroimaging measures, and cerebrospinal fluid biomarkers. *JAMA Network Open*, 2(7), e197978–e197978. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.7978>
- O'Brien, M. A., McMichael, M. A., Le Boedec, K., & 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. <https://doi.org/10.1111/vec.12162>
- Oberbauer, A. M., & Larsen, J. A. (2021). Amino Acids in Dog Nutrition and Health. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1285, 199–216. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54462-1_10
- Osselaer, J. C., Jamart, J., & Scheiff, J. M. (1997). Platelet distribution width for differential diagnosis of thrombocytosis. *Clinical Chemistry*, 43(6 Pt 1), 1072–1076.
- Ottka, C., Vapalahti, K., Määttä, A.-M., Huuskonen, N., Sarpanen, S., Jalkanen, L., & Lohi, H. (2021). High serum creatinine concentration is associated with metabolic perturbations in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(1), 405–414. <https://doi.org/10.1111/jvim.16011>
- Ozawa, M., Chambers, J. K., Uchida, K., & Nakayama, H. (2016). The Relation between canine cognitive dysfunction and age-related brain lesions. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 78(6), 997–1006. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0624>
- Ozawa, M., Inoue, M., Uchida, K., Chambers, J. K., Takeuch, Y., & Nakayama, H. (2019). Physical signs of canine cognitive dysfunction. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 81(12), 1829–1834. <https://doi.org/10.1292/jvms.19-0458>
- Paltrinieri, S, Bertazzolo, W., & Giordano, A. (2010). *Patologia clinica del cane e del gatto* (pp. 22–64). Elsevier-Masson.
- Paltrinieri, Saverio., Preatoni, M., & Rossi, S. (2010). Microcytosis does not predict serum iron concentrations in anaemic dogs. *The Veterinary Journal*, 185(3), 341–343.
- Papp, D. (1973). Visión sinóptica de la ciencia durante el Positivismo. En: Laín-Entralgo P. In *Historia universal de la Medicina* (Vol. 6, pp. 11–27). Salvat Editores.
- Parachini-Winter, C., Carioto, L. M., & Gara-Boivin, C. (2019). Retrospective evaluation of

anemia and erythrocyte morphological anomalies in dogs with lymphoma or inflammatory bowel disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 254(4), 487–495. <https://doi.org/10.2460/javma.254.4.487>

Pati, S., Panda, S. K., Acharya, A. P., Senapati, S., Behera, M., & Behera, S. S. (2015). Evaluation of geriatric changes in dogs. *Veterinary World*, 8(3), 273–278. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.273-278>

Pedrozo, R., Quintana, G., Bazán, A., & Florentín, M. (2010). Valores hematológicos de referencia en caninos adultos aparentemente sanos, que concurren a una clínica privada de Asunción. In *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud* (Vol. 8, pp. 5–13). scielo.

Persijn, J.-P., van der Slik, W., & Riethorst, A. (1971). Determination of serum iron and Latent Iron-Binding Capacity (LIBC). *Clinica Chimica Acta*, 35(1), 91–98. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0009-8981\(71\)90298-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0009-8981(71)90298-1)

Piccione, G., Fazio, F., Giudice, E., & Refinetti, R. (2009). Body size and the daily rhythm of body temperature in dogs. *Journal of Thermal Biology*, 34(4), 171–175. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2009.01.004>

Pittari, J., Roda, I., Beekman, G., Gunn-Moore, D., Polzin, D., Taboada, J., Tuzio, H., & Zoran, D. (2009). American association of feline practitioners: senior care guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(9), 763–778. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.07.011>

Plumb, D. C. (2011). *Drug considerations in the geriatric patient* (7th ed., pp. 14–17). Wiley-Blackwell.

Polzin, D. J., Osborne, C. A., & Ross, S. (2005). Chronic kidney disease. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 2, 1756–1785.

Pretorius, E. (2013). The adaptability of red blood cells. *Cardiovascular Diabetology*, 12, 63. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-12-63>

Pretorius, E., Bester, J., Vermeulen, N., Alummoottil, S., Soma, P., Buys, A. V., & Kell, D. B. (2015). Poorly controlled type 2 diabetes is accompanied by significant morphological and ultrastructural changes in both erythrocytes and in thrombin-generated fibrin: implications for diagnostics. *Cardiovascular Diabetology*, 14, 30. <https://doi.org/10.1186/s12933-015-0192-5>

Pretorius, E., & Kell, D. B. (2014). Diagnostic morphology: biophysical indicators for iron-driven inflammatory diseases. *Integrative Biology: Quantitative Biosciences from*

- Nano to Macro*, 6(5), 486–510. <https://doi.org/10.1039/c4ib00025k>
- Prinsen, B. H. C. M. , & de Sain-van der Velden, M. G. M. (2004). Albumin turnover: experimental approach and its application in health and renal diseases. *Clinica Chimica Acta*, 347(1), 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.04.005>
- Pugliese, M., Carrasco, J. L., Andrade, C., Mas, E., Mascort, J., & Mahy, N. (2005). Severe cognitive impairment correlates with higher cerebrospinal fluid levels of lactate and pyruvate in a canine model of senile dementia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(4), 603–610. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.01.017>
- Puurunen, J., Ottka, C., Salonen, M., Niskanen, J. E., & Lohi, H. (2022). Age, breed, sex and diet influence serum metabolite profiles of 2000 pet dogs. *Royal Society Open Science*, 9(2), 211642. <https://doi.org/10.1098/rsos.211642>
- Radakovich, L. B., Pannone, S. C., Truelove, M. P., Olver, C. S., & Santangelo, K. S. (2017). Hematology and biochemistry of aging—evidence of “anemia of the elderly” in old dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 46(1), 34–45. <https://doi.org/10.1111/vcp.12459>
- Rebar, A., & Metzger, F. (2001). Interpreting hemograms in cats and dogs. *Veterinary Medicine*, 1–9.
- Reis, A. B., Carneiro, C. M., Carvalho, M. das G., Teixeira-Carvalho, A., Giunchetti, R. C., Mayrink, W., Genaro, O., Corrêa-Oliveira, R., & Martins-Filho, O. A. (2005). Establishment of a microplate assay for flow cytometric assessment and its use for the evaluation of age-related phenotypic changes in canine whole blood leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 103(3–4), 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.08.014>
- Rishniw, M., Ljungvall, I., Porciello, F., Häggström, J., & Ohad, D. G. (2012). Sleeping respiratory rates in apparently healthy adult dogs. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 965–969. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.12.014>
- Rizzi, T. E., Meinkoth, J. H., & Clinkenbeard, K. D. (2010). Normal hematology of the dog. In D. J. W. & K. J. Wardrop (Ed.), *Schalm’s Veterinary Hematology* (pp. 799–810).
- Rortveit, R., Saevik, B. K., Eggertsdottir, A. V., Skancke, E., Lingaas, F., Thoresen, S. I., & 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. <https://doi.org/10.1111/vcp.12220>. <https://doi.org/10.1111/vcp.12220>

- Ryan, T. P., & Aust, S. D. (1992). The role of iron in oxygen-mediated toxicities. *Critical Reviews in Toxicology*, 22(2), 119–141.
- Şahin, M., Duru, N. S., Eleveli, M., & Civilibal, M. (2017). Assessment of platelet parameters in children with pneumonia. *Cocuk Enfeksiyon Dergisi*, 11(3), E106–E112.
- Salvin, H. E., McGreevy, P. D., Sachdev, P. S., & Valenzuela, M. J. (2011). The canine cognitive dysfunction rating scale (CCDR): A data-driven and ecologically relevant assessment tool. *Veterinary Journal*, 188(3), 331–336.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.05.014>
- Sánchez Klinge, M. E., & Venegas Cortés, C. A. (2009). *Aprendizaje del examen clínico de los equinos, bovinos y caninos* (Universidad de la Salle (ed.)). Universidad de la Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Medicina Veterinaria.
https://books.google.com.mx/books?id=43_1DwAAQBAJ
- Schafers, A., Meierhans, S., Sauter-Louis, C., Hartmann, K., & Hirschberger, J. (2013). Reference values for haematological and clinical-chemical parameters in the dog. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, 41(3), 163–172. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1623703>
- Schütt, T., Toft, N., & Berendt, M. (2015). Cognitive function, progression of age-related behavioral changes, biomarkers, and survival in dogs more than 8 years old. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(6), 1569–1577. <https://doi.org/10.1111/jvim.13633>
- Selman, C., Nussey, D. H., & Monaghan, P. (2013). Ageing: It's a dog's life. *Current Biology*, 23(10), R451–R453. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.005>
- Shankaralingappa, A., Tummididi, S., & Arun Babu, T. (2022). Diagnostic value of platelet indices in COVID 19 infection: a case-control study from a single tertiary care center. *The Egyptian Journal of Internal Medicine*, 34(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s43162-022-00123-x>
- Stefanescu, A., Vitalaru, B. A., Lippi, I., & Toader, M. (2018). Alterations of echinocytes in dogs with acute renal injury undergoing hemodialysis. *Journal of Biotechnology*, 280, S76. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.06.249>
- Strasser, A., Niedermuller, H., Hofecker, G., & Laber, G. (1993). The effect of aging on laboratory values in dogs. *Zentralbl Veterinarmed A*, 40(9–10), 720–730.
- Strehler, B. (1976). Elements of unified theory of aging: integration of alternative models. In In: Platt D (Ed.), *Alternstheorien*. Schattauer Verlag.
- Szabó, D., Gee, N. R., & Miklósi, Á. (2016). Natural or pathologic? Discrepancies in the

- study of behavioral and cognitive signs in aging family dogs. *Journal of Veterinary Behavior*, 11, 86–98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jveb.2015.08.003>
- Szasz, G. (1974). New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Z Klin Chem Klin Biochem*, 12(5), 228.
- Talke, H., & Schubert, G. E. (1965). Enzymatic urea determination in the blood and serum in the warburg optical test. *Klin Wochenschr*, 43, 174–175.
- Thornley, A. (2015). Nursing the senior patient. *Veterinary Nursing Journal*, 30(5), 150–153. <https://doi.org/10.1080/17415349.2015.1029331>
- Thrall, M.A. (2006). Erythrocyte morphology. In M.A. Thrall, D. C. Baker, & T. W. Campbel (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (pp. 69–82).
- Thrall, Mary Anna., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. John Wiley & Sons.
- Tietz, N. W., Burtis, C. A., Duncan, P., Ervin, K., Petitclerc, C. J., Rinker, A. D., Shuey, D., & Zygowicz, E. R. (1983). A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clinical Chemistry*, 29(5), 751–761.
- Tomlinson, L., Boone, L. I., Ramaiah, L., Penraat, K. A., von Beust, B. R., Ameri, M., Poitout-Belissent, F. M., Weingand, K., Workman, H. C., & Aulbach, A. D. (2013). Best practices for veterinary toxicologic clinical pathology, with emphasis on the pharmaceutical and biotechnology industries. *Veterinary Clinical Pathology*, 42(3), 252–269.
- Topál, J., Román, V., & Turcsán, B. (2019). The dog (*Canis familiaris*) as a translational model of autism: It is high time we move from promise to reality. *WIREs Cognitive Science*, 10(4). <https://doi.org/10.1002/wcs.1495>
- Tothova, C., Nagy, O., & Kovac, G. (2016). Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: A review. *Veterinarni Medicina*, 61(9), 475–496. <https://doi.org/10.17221/19/2016-VETMED>
- Trinder, P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann. Clin. Biochem.*, 6, 24–27.
- Turcsán, B., Miklósi, Á., & Kubinyi, E. (2017). Owner perceived differences between mixed-breed and purebred dogs. *PLOS ONE*, 12(2), e0172720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172720>
- UAA. (2019). Regulations for the use of animals in teaching and research at the Autonomous University of Aguascalientes. In *University legislation* (No. 29; pp. 1-11.).

<https://www.uaa.mx/institucion/LEGISLACION UNIVERSITARIA.pdf>

- Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. D. (2014). Introduction: Blood smear preparation and examination. In A. C. Valenciano, R. L. Cowell, T. E. Rizzi, & R. D. B. T.-A. of C. and F. P. B. S. Tyler (Eds.), *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears* (pp. 2–21). Mosby. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-04468-4.00008-2>
- Vázquez-Santiago, M., Ziyatdinov, A., Pujol-Moix, N., Brunel, H., Morera, A., Soria, J. M., & Souto, J. C. (2016). Age and gender effects on 15 platelet phenotypes in a Spanish population. *Computers in Biology and Medicine*, *69*, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2015.12.023>
- Vikartovska, Z., Farbakova, J., Smolek, T., Hanes, J., Zilka, N., Hornakova, L., Humenik, F., Maloveska, M., Hudakova, N., & Cizkova, D. (2021). Novel diagnostic tools for identifying cognitive impairment in dogs: Behavior, biomarkers, and pathology. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*, 551895. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.551895>
- Visser, M., Kritchevsky, S. B., Newman, A. B., Goodpaster, B. H., Tylavsky, F. A., Nevitt, M. C., & Harris, T. B. (2005). Lower serum albumin concentration and change in muscle mass: The health, aging and body composition study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *82*(3), 531–537. <https://doi.org/10.1093/ajcn.82.3.531>
- von Dehn, B. (2014). Pediatric clinical pathology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, *44*(2), 205–219. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.10.003>
- Walker, D. (2008). Peripheral blood smears. In R L Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth, & D. B. DeNicola (Eds.), *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. (pp. 390–421). Mosby Elsevier.
- Wallis, L. J., Szabó, D., Erdélyi-Belle, B., & Kubinyi, E. (2018). Demographic Change Across the Lifespan of Pet Dogs and Their Impact on Health Status . In *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 5). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2018.00200>
- Wassmann, S., Bäumer, A. T., Strehlow, K., van Eickels, M., Grohé, C., Ahlbory, K., Rösen, R., Böhm, M., & Nickenig, G. (2001). Endothelial dysfunction and oxidative stress during estrogen deficiency in spontaneously hypertensive Rats. *Circulation*, *103*(3), 435–441. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.103.3.435>
- Watabe, A., Fukumoto, S., Komatsu, T., Endo, Y., & Kadosawa, T. (2011). Alterations of lymphocyte subpopulations in healthy dogs with aging and in dogs with cancer.

- Veterinary Immunology and Immunopathology*, 142(3–4), 189–200.
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.05.008>
- Watanabe, A., Matsuzaki, S., Moriwaki, H., Suzuki, K., & Nishiguchi, S. (2004). Problems in serum albumin measurement and clinical significance of albumin microheterogeneity in cirrhotics. *Nutrition*, 20(4), 351–357.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nut.2003.12.006>
- Wells, D. L. (2019). The state of research on human–animal relations: Implications for human health. *Anthrozoös*, 32(2), 169–181.
<https://doi.org/10.1080/08927936.2019.1569902>
- Willard, M. D., & Twedt, D. C. (2012). Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 191.
- Willems, A., Paepe, D., Marynissen, S., Smets, P., Maele, I. Van De, Picavet, P., Duchateau, L., & Daminet, S. (2017). Results of screening of apparently healthy senior and geriatric dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31, 81-92.
<https://doi.org/10.1111/jvim.14587>
- Yolcu, S., Beceren, G. N., Tomruk, Ö., Doguç, D. K., & Balbaloglu, O. (2014). Can mean platelet volume levels of trauma patients predict severity of trauma? *Platelets*, 25(4), 279–284. <https://doi.org/10.3109/09537104.2013.809410>
- Yoon, J.-S., Yu, D., & Park, J. (2021). Changes in the Serum Protein Electrophoresis Profile in Dogs With Pyometra. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 626540.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.626540>
- Youssef, S. A., Capucchio, M. T., Rofina, J. E., Chambers, J. K., Uchida, K., Nakayama, H., & Head, E. (2016). Pathology of the Aging Brain in Domestic and Laboratory Animals, and Animal Models of Human Neurodegenerative Diseases. *Veterinary Pathology*, 53(2), 327–348. <https://doi.org/10.1177/0300985815623997>
- Zapryanova, D., Mircheva, T., Hristov, T., Lazarov, L., Atanasov, A., Petrova, Y., & Lalev, D. (2017). Changes in the concentrations of some plasma proteins during acute inflammation in dogs. *Advanced Research in Life Sciences*, 1(1), 85-89.
<https://doi.org/10.1515/arls-2017-0015>
- Zoia, A., Gerou-Ferriani, M., Drigo, M., & Caldin, M. (2018). Case-control study of plasma mean platelet component concentration and survival analysis for dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 252(11), 1384–1392. <https://doi.org/10.2460/javma.252.11.1384>

ANEXOS

Anexo 1. Detección de perros senior y geriatras aparentemente sanos: cuestionario para propietarios.

1) ¿Cómo describiría la salud general de su perro? (marque la respuesta correcta).

Muy buena Buena Regular Mala Muy mala

2) ¿Su perro es? Activo Pasivo (tranquilo/poca actividad)

¿Ha cambiado esto en comparación con hace unos años? No Sí Si la respuesta es sí, explique en que ha cambiado

3) Entorno de vida (marque la respuesta correcta).

Ciudad Campo

4) Estilo de vida (marque una o más respuestas correctas).

Caminatas diarias Liberado regularmente en el jardín
Permanece al aire libre Solo dentro de la casa
Puede decidir salir a la calle Otro: Explique otra opción

5) ¿Cuántos paseos hace con su perro y cuál es la distancia promedio?

Describa aquí su respuesta.

6) ¿Ha notado algún cambio de comportamiento? No Sí Si la respuesta es sí, explique en que ha cambiado

- ¿Con qué frecuencia su perro camina arriba y abajo, camina en círculos y/o deambula sin dirección o propósito?
Nunca 1 vez/mes 1 vez/semana 1 vez/día Más de 1 vez/día
- ¿Con qué frecuencia su perro mira fijamente las paredes o el piso?
Nunca 1 vez/mes 1 vez/semana 1 vez/día Más de 1 vez/día
- ¿Con qué frecuencia su perro se queda atrapado detrás de objetos y no puede moverse?
Nunca 1 vez/mes 1 vez/semana 1 vez/día Más de 1 vez/día
- ¿Con qué frecuencia su perro no reconoce a las personas o mascotas familiares?
Nunca 1 vez/mes 1 vez/semana 1 vez/día Más de 1 vez/día
- ¿Con qué frecuencia camina su perro contra paredes o puertas?
Nunca 1 vez/mes 1 vez/semana 1 vez/día Más de 1 vez/día
- ¿Con qué frecuencia se aleja su perro mientras le dan palmaditas o lo evita?
Nunca 1 vez/mes 1 vez/semana 1 vez/día Más de 1 vez/día
- ¿Con qué frecuencia su perro tiene dificultades para encontrar comida que se cae al suelo?
Nunca 1-30% de veces 31-60% de veces 61-99% de veces Siempre

Para las siguientes preguntas: en caso de que el problema no se presente, por favor marque 'Lo mismo'.

- En comparación con hace 6 meses, ¿su perro ahora camina hacia arriba y hacia abajo, camina en círculos y/o deambula sin dirección ni propósito?
Mucho menos Un poco menos Lo mismo Un poco más Mucho más

- En comparación con hace 6 meses, ¿es la cantidad de tiempo que su perro pasa activo?
Mucho más Un poco más Lo mismo Un poco menos Mucho menos
- En comparación con hace 6 meses, ¿su perro ahora mira fijamente las paredes o piso?
Mucho menos Un poco menos Lo mismo Un poco más Mucho más
- En comparación con hace 6 meses, ¿su perro orina o defeca en un área que anteriormente mantenía limpia?
Mucho menos Un poco menos Lo mismo Un poco más Mucho más
- En comparación con hace 6 meses, ¿su perro tiene dificultades para encontrar la comida que se le cayó al suelo? (Puntuación x2)
Mucho menos Un poco menos Lo mismo Un poco más Mucho más
- Compare con hace 6 meses, ¿su perro no reconoce a personas o mascotas conocidas? (Puntuación x3)
Mucho menos Un poco menos Lo mismo Un poco más Mucho más

A completar por el veterinario: Tasa total de disfunción cognitiva canina =

(Cuestionario basado en Salvin HE, McGreevy PD, Sachdev PS, *et al.* The canine cognitive dysfunction rating scale (CCDR): A data-driven and ecologically relevant assessment tool. *Vet J* 2011; 188:331).

- 7) ¿Hay otras mascotas en el hogar? Si es así, ¿cuál y cuántos?
No Sí Si la respuesta es sí, describa cuál y cuántos
- 8) ¿Su perro come normalmente? ¿Menos o más que antes? Si no es normal, por favor describir. Descríbalo aquí.
- 9) ¿Su perro bebe normalmente? ¿Menos o más que antes? Si no es normal, por favor describir. Descríbalo aquí.
- 10) ¿Su orina es normal? ¿La posición es normal? ¿Ud. tiene la impresión de que es difícil o doloroso para su perro orinar? Descríbalo aquí.
- 11) ¿La defecación es normal? ¿La posición es normal? ¿Ud. tienes la impresión de que es difícil o doloroso para su perro defecar? Descríbalo aquí.
- 12) ¿Su perro ha vomitado recientemente? No Sí
 ¿Cuándo y con qué frecuencia? Descríbalo aquí.
 Descripción Descríbalo aquí.
 ¿Se dio algún tratamiento, cuál? Descríbalo aquí.
- 13) ¿Su perro ha sufrido recientemente de diarrea? No Sí
 ¿Cuándo y con qué frecuencia? Descríbalo aquí.
 Descripción Descríbalo aquí.
 ¿Se dio algún tratamiento, cuál? Descríbalo aquí.
- 14) ¿Su perro ha presentado tos, estornudos o secreción nasal? No Sí
 ¿Cuándo y frecuencia? Descríbalo aquí.
 Descripción: Productivo (flemas o moco). En reposo.
No productivo (seco). Durante el ejercicio.
 ¿Se dio algún tratamiento, cuál? Descríbalo aquí.
- 15) ¿Tiene la impresión de que su perro se fatiga más rápido durante el ejercicio (moderado)?

No Sí Si la respuesta es sí descríbalo aquí.

16) ¿Su perro muestra un patrón de respiración acelerado y/o dificultad para respirar? No Sí
 ¿Sí es sí, cuándo? Durante el descanso y/o Durante la actividad

17) ¿Qué comida recibe su perro? (marca + tipo)

Alimentos comerciales (croquetas):Coloque aquí el nombre comercial.

Comida enlatada: Coloque aquí el nombre comercial.

Dieta casera: Coloque aquí el tipo de comida.

Carne cruda: Coloque aquí el tipo de carne.

¿Qué cantidad?: Coloque aquí la cantidad de alimento que consume al día.

¿Cuántas veces al día o es a voluntad propia (*Ad libitum*)?: Coloque aquí la respuesta.

¿Cambios recientes en el alimento?: No Sí

¿Recibe algo extra (premios, carnazas...)?: No Sí

18) ¿Es estable el peso de su perro? Por favor especifica

No Sí Si la respuesta es no, especifique si ha notado que aumenta o disminuye...

19) ¿Ha recibido su perro algún medicamento en los últimos dos meses?

No Sí

¿Qué producto, cuándo, cuánto tiempo? Coloque aquí la respuesta.

20) ¿Se le realizan vacunaciones y desparasitaciones con regularidad? No Sí

¿Cuándo fue la última vez? Coloque aquí la respuesta.

21) ¿Su perro recibe tratamiento contra pulgas, garrapatas,...? No Sí

¿Cuándo fue la última vez? Coloque aquí la respuesta.

22) ¿Le cepillas los dientes a tu perro? No Sí

Si es así, ¿con qué frecuencia? Coloque aquí la respuesta.

23) ¿Su perro ha estado alguna vez fuera de Aguascalientes? No Sí

¿Dónde y cuándo? Coloque aquí la respuesta.

24) ¿Tiene su perro algún historial médico importante? (enfermedad, cirugía, trauma, medicamento)

Coloque aquí la respuesta.

25) ¿Cuándo fue su última visita al veterinario? ¿Con qué frecuencia lo ve un veterinario?

Coloque aquí la respuesta.

26) ¿Se ha examinado previamente al perro para detectar hipertensión o soplo cardíaco?

No Sí ¿Cuándo? Coloque aquí la respuesta.

¿Cuál fue el resultado? Coloque aquí la respuesta.

27) ¿Se ha realizado previamente al perro un análisis de sangre?

No Sí ¿Cuándo? Coloque aquí la respuesta.

¿Qué prueba (s)? Coloque aquí la respuesta.

¿Cuál fue el resultado? Coloque aquí la respuesta.

28) ¿Se ha realizado previamente una ecocardiografía (ultrasonido de corazón)?

No Sí ¿Cuándo? Coloque aquí la respuesta.

¿Cuál fue el resultado? Coloque aquí la respuesta.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

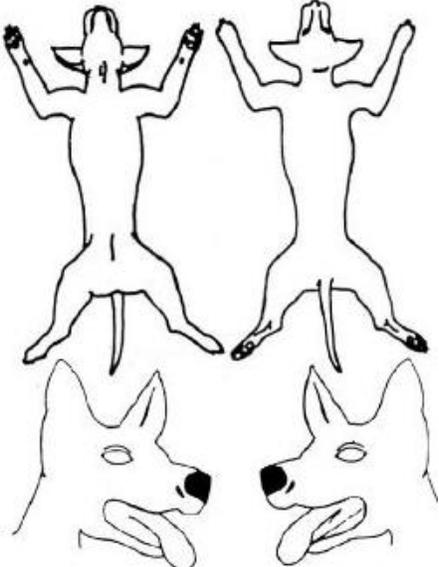
Yo escriba aquí el nombre del propietario soy el dueño o representante del dueño de la mascota escriba aquí el nombre de la mascota y tengo la autoridad de ejecutar este consentimiento, por tanto, doy mi autorización para que a la mascota nombrada le realicen un examen clínico y le tomen una muestra de sangre (de vena yugular o cefálica) para realizarle pruebas de laboratorio (hematología y química sanguínea) de manera gratuita como parte del proyecto de investigación de la tesis doctoral de M en C. MVZ Ana Luisa Montoya Navarrete de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Yo entiendo que se tomaran las precauciones necesarias para reducir el estrés y salvaguardar la salud de mi mascota durante el procedimiento, pero entiendo que durante el mismo mi mascota pueda ponerse inquieta o nerviosa y moverse al momento de extraer la muestra de sangre provocando alguna inflamación menor o dolor en el área de punción. En este caso se aconseja al dueño no jalar de la correa con mucha fuerza (si la muestra se obtuvo de vena yugular) y colocar compresas frías para ayudar a disminuir la inflamación (durante 8 a 12 horas). Yo me comprometo a seguir las indicaciones antes mencionadas.

Mi firma abajo indica que he leído y entendido este consentimiento.

Firma: Escriba aquí el nombre del propietario

Fecha

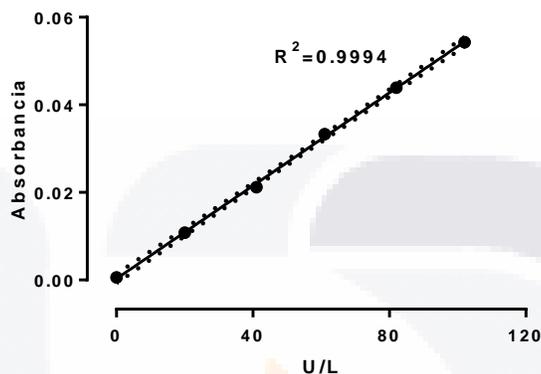
Anexo 2. Hoja clínica.

NÚMERO DE MUESTRA:		FECHA:		
PROPIETARIO:				
DIRECCIÓN:				
TELÉFONO:				
CORREO:				
DATOS DEL PACIENTE				
NOMBRE:	EDAD:	SEXO: H/M	RAZA:	PESO:
SEÑAS PARTICULARES:				
VACUNACIÓN: SI/NO FECHA:		DESPARASITACIÓN: SI/NO FECHA:		ESTERILIZACIÓN: SI/NO
ALIMENTO	AYUNO SI/NO 6h 8h otro:		PROCEDENCIA RURAL/URBANA	
ANAMNESIS:				
T°	FC	PULSO	MUCOSAS	TLLC seg
FR	PALMOPERCUSIÓN	REFLEJO T.	REFLEJO D.	CC
HIDRATACIÓN	LINFONODOS	PAL. ABD.		
OBSERVACIONES:				
				
ENFERMEDADES O PROCEDIMIENTOS ANTERIORES:				

Anexo 3. 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	42 - 64 U/L
II	113 – 171 U/L

Procedimiento de la técnica:

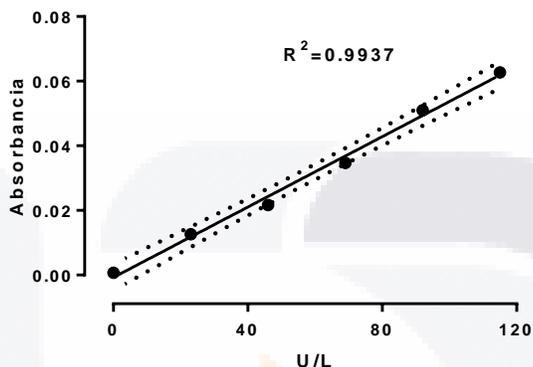
1. Preparación del reactivo GPT (ALT) de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000µL de reactivo más 100 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar a 37°C durante 1 minuto.
4. Analizar en el equipo BTS-350 BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 minutos).
6. Por último,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

Equipo: Espectrofotómetro BTS- 350

Anexo 4. 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	50 – 76 U/L
II	205 – 309 U/L

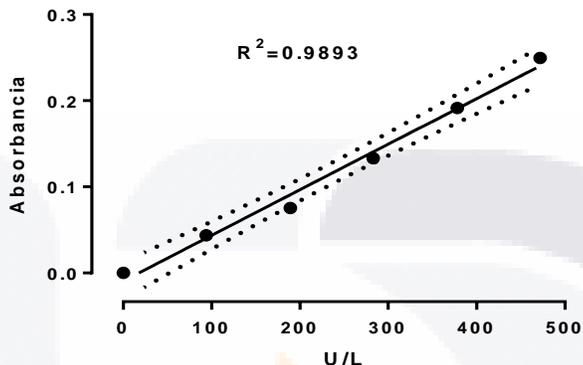
Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo GPT (AST) de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 μ L de reactivo más 100 μ 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 5. 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	64 – 118 U/L
II	151 – 281 U/L

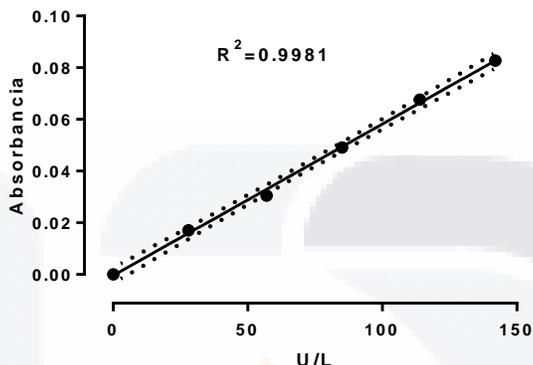
Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo FA de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 µL 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 (2 minutos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en U/L.

Anexo 6. Técnica para la cuantificación de la actividad enzimática de γ -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.

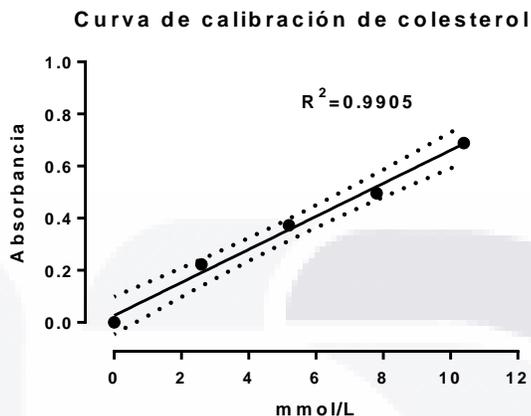
Control	Rango
I	30 – 56 U/L
II	113 – 169 U/L

Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo GGT de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 μ L de reactivo más 100 μ 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 7. 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.

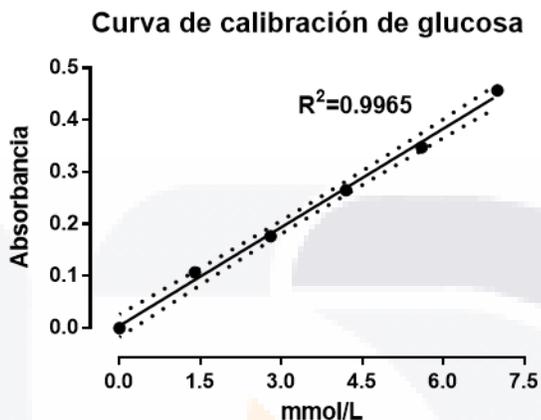
Control	Rango
I	122 – 150 mg/dL
II	270 – 330 mg/dL

Procedimiento de la técnica:

1. El reactivo de Colesterol Pointe Scientific, Inc. está 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 8. 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.

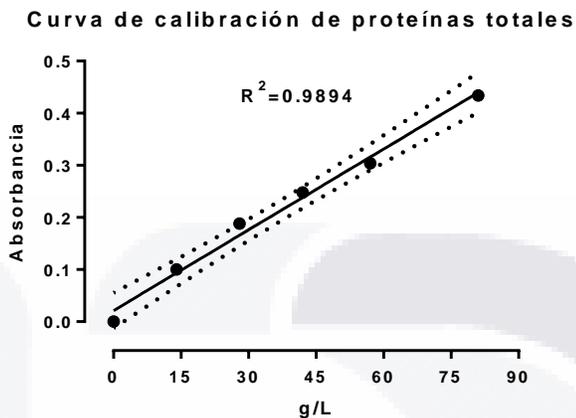
Control	Rango
I	75 – 91 mg/dL
II	256 – 314 mg/dL

Procedimiento de la técnica:

1. El reactivo de Glucosa Pointe Scientific, Inc. está 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 9. Técnica para la cuantificación de proteínas totales.

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.

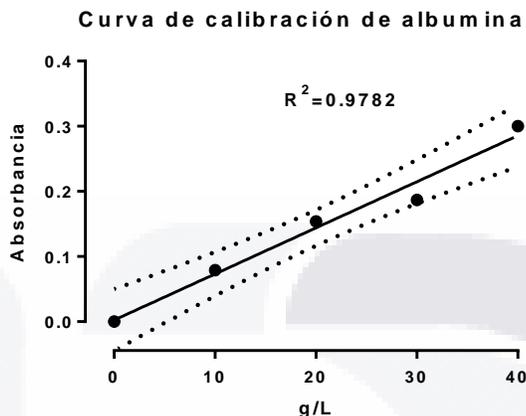
Control	Rango
I	3.2 – 4 g/dL
II	6.1 – 7.5 g/dL

Procedimiento de la técnica:

1. El reactivo de Proteínas totales Pointe Scientific, Inc. está listo para usarse.
2. Pipetear 500 µL 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 10. 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.

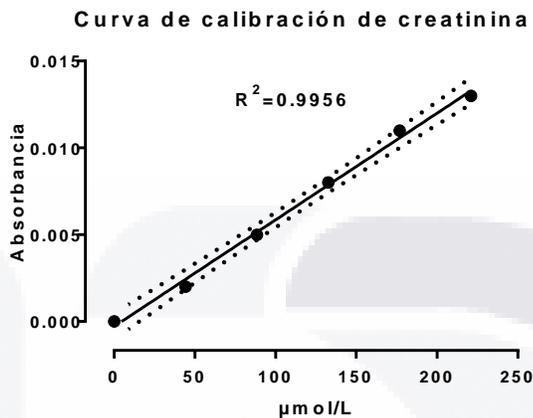
Control	Rango
I	2.2 – 2.8 g/dL
II	3.9 – 4.7 g/dL

Procedimiento de la técnica:

1. El reactivo de albúmina Pointe Scientific, Inc. está 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 11. 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	0.75– 1.35 mg/dL
II	5.38 – 5.92 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 12. Técnica para la cuantificación de BUN.**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	13 – 17 mg/dL
II	47 – 57 mg/dL

Procedimiento de la técnica:

1. Preparación del reactivo BUN de Pointe Scientific, Inc.
2. Pipetear 1000 μ L de reactivo más 10 μ 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 mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

Anexo 13. Técnica para la cuantificación de calcio.

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	8.3 – 10.3 mg/dL
II	12 – 14 mg/dL

Procedimiento de la técnica:

1. El reactivo calcio de Pointe Scientific, Inc. está listo para usarse.
2. Pipetear 1000 µL de reactivo más 10 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 segundos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

Anexo 14. Técnica para la cuantificación de fósforo.

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	3.4 – 4.2 mg/dL
II	7.5 – 9.3 mg/dL

Procedimiento de la técnica:

1. El reactivo fósforo inorgánico de Pointe Scientific, Inc. está listo para usarse.
2. Pipetear 1000 µL de reactivo más 20 µL de muestra en un tubo de ensaye.
3. Mezclar e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
4. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
5. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 segundos).
6. Por último, se captura el valor obtenido en mg/dL y se realiza la conversión a la UI.

Anexo 15. Técnica para la cuantificación de hierro.

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	63 – 95 µg/dL
II	132 – 200 µg/dL

Procedimiento de la técnica:

1. Pipetear 500 µL de buffer más y agregue 100 µL de muestra en un tubo de ensaye.
2. Mezclar y agregar 10 µL de reactivo de color incubar durante 10 minutos a 37°C.
3. Analizar en el equipo BTS-350 de BioSystems®.
4. Esperar a que el equipo arroje el resultado (2 segundos).
5. Por último, se captura el valor obtenido en µg/dL y se realiza la conversión a la UI.