



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
DIPLOMADO



MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN LA EVIDENCIA (MLBE) APLICADA A LA
PRÁCTICA VETERINARIA

INDICE

ESTUDIOS	FECHA DE ENTREGA	TIPO	TAMAYO
1 CISNEROS DIANA Factor de Von-Willeb...	09/08/2024 11:31 p. m.	Archivo PDF	498 KB
1 CISNEROS DIANA Factor de Von-Willeb...	09/08/2024 11:41 p. m.	Archivo PDF	3,518 KB
1 De la Sancha_fragibilidad GR	09/08/2024 11:32 p. m.	Archivo PDF	386 KB
1 Lara Lazo JOSE MIGUEL Biomarcadores ...	09/08/2024 11:33 p. m.	Archivo PDF	329 KB
1 Olivos BRENDA CHOQUE SEPTICO Y S...	09/08/2024 11:33 p. m.	Archivo PDF	569 KB
2 FLORES DANID ELECTROFORESIS DE PR...	09/08/2024 11:34 p. m.	Archivo PDF	487 KB
2 Tenorio Tranquilino Evelyn Guadalupe ...	09/08/2024 11:34 p. m.	Archivo PDF	543 KB
2 ZAVALA DÍAZ VÍCTOR correlación entre ...	09/08/2024 11:35 p. m.	Archivo PDF	856 KB
2 ZAVALA DÍAZ VÍCTOR correlación entre ...	09/08/2024 11:43 p. m.	Archivo PDF	4,099 KB
3 Bonilla Orozco SILVIA LETICIA ELASTO...	09/08/2024 11:36 p. m.	Archivo PDF	327 KB
3 Reyes A LILIANA A. fosfatasa alcalina i...	09/08/2024 11:36 p. m.	Archivo PDF	305 KB
5 Castellanos Iglesias Mayra Desireé Fuct...	09/08/2024 11:37 p. m.	Archivo PDF	425 KB
5 Magadan Rojas NALLELY TINCION DE P...	09/08/2024 11:37 p. m.	Archivo PDF	485 KB
5 RODRÍGUEZ CHÁVEZ MICHELLE Tripsin...	09/08/2024 11:38 p. m.	Archivo PDF	448 KB
5 SÁNCHEZ RODRÍGUEZ VICTOR RUBENE...	09/08/2024 11:38 p. m.	Archivo PDF	1,097 KB
5 Santiago Hernández Monserrat Sarai pr...	09/08/2024 11:39 p. m.	Archivo PDF	311 KB

Compilación de los trabajos finales entregados por los alumnos del Diplomado

Agosto 2024



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

DIPLOMADO MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN LA
EVIDENCIA
(MLBE)

Determinación del Factor de Von-Willebrand
en caninos

Profesores:

Dr. Guillermo Valdivia Anda

MVZ Graciela Castañeda Aceves

Alumna: Diana Estefanía Cisneros Vásquez

Número de lista: 4

ÍNDICE

I.	Introducción.....	2
II.	Antecedentes.....	5
III.	Marco de referencia.....	7
	a. Hipótesis.....	8
	b. Objetivos.....	8
IV.	Material y/o Métodos.....	9
V.	Resultados.....	12
VI.	Discusión.....	15
VII.	Conclusiones.....	18
VIII.	Abreviaciones.....	22
IX.	Bibliografía.....	23

INTRODUCCIÓN

El término hemostasia significa prevención de la pérdida de sangre. Siempre que se corta o se rompe un vaso, se llega a la hemostasia por varios mecanismos: 1) el espasmo vascular; 2) la formación de un tapón de plaquetas; 3) la formación de un coágulo sanguíneo como resultado de la coagulación sanguínea, y 4) la proliferación final de tejido fibroso en el coágulo sanguíneo para cerrar el agujero en el vaso de manera permanente.

Coagulación sanguínea en el vaso roto

El tercer mecanismo de la hemostasia es la formación del coágulo sanguíneo. El coágulo empieza a aparecer en 15 a 20 s si el traumatismo de la pared vascular ha sido grave y en 1 a 2 min si el traumatismo ha sido menor. Las sustancias activadoras de la pared vascular traumatizada, de las plaquetas y de las proteínas sanguíneas que se adhieren a la pared vascular traumatizada inician el proceso de la coagulación.

Mecanismos de la coagulación

Estos mecanismos entran en juego mediante: 1) un traumatismo en la pared vascular y los tejidos adyacentes; 2) un traumatismo de la sangre, o 3) un contacto de la sangre con las células endoteliales dañadas o con el colágeno y otros elementos del tejido situados fuera del vaso sanguíneo. En cada caso, esto conduce a la formación del activador de la protrombina, que después convierte la protrombina en trombina y favorece las fases siguientes de la coagulación.

Se considera que el activador de la protrombina se forma generalmente de dos maneras, aunque en realidad ambas interactúan constantemente entre sí: 1) mediante la vía extrínseca que empieza con el traumatismo de la pared vascular y de los tejidos circundantes, y 2) mediante la vía intrínseca que empieza en la sangre.

En ambas vías, una serie de proteínas plasmáticas diferentes, llamadas *factores de la coagulación sanguínea*, desempeñan la función principal. La mayoría de estas proteínas son formas inactivas de enzimas proteolíticas. Cuando se convierten en formas activas, sus acciones enzimáticas causan las sucesivas reacciones en cascada del proceso de la coagulación.

La mayoría de los factores de coagulación se designan por números romanos. Para indicar la forma activa del factor, se añade una letra «a» después del número romano (p. ej., factor VIIIa para indicar el estadio activado del factor VIII). (Hall, 2016)

Factores de coagulación en la sangre y sus sinónimos

Factor de coagulación	Sinónimos
Fibrinógeno	Factor I
Protrombina	Factor II
Factor tisular	Factor III; tromboplastina tisular
Calcio	Factor IV
Factor V	Proacelerina; factor lábil; Ac-globulina (Ac-G)
Factor VII	Acelerador de la conversión de la protrombina sérica (SPCA); proconvertina; factor estable
Factor VIII	Factor antihemofílico (AHF); globulina antihemofílica (AHG); factor antihemofílico A
Factor IX	Componente tromboplastínico del plasma (PTC); factor de Christmas; factor antihemofílico B
Factor X	Factor de Stuart; factor de Stuart-Prower
Factor XI	Antecedente tromboplastínico del plasma (PTA); factor antihemofílico C
Factor XII	Factor de Hageman
Factor XIII	Factor estabilizador de la fibrina
Precalcireína	Factor de Fletcher
Cinínógeno de masa molecular alta	Factor de Fitzgerald; CAPM (cinínógeno de alto peso molecular)
Plaquetas	

La enfermedad de von Willebrand (vWD) es un trastorno hemorrágico de gravedad variable que resulta de un defecto cuantitativo o cualitativo del factor de von Willebrand (vWF). La vWD se ha observado en muchas especies de mamíferos, incluidos los humanos y los perros. Este factor de coagulación tiene dos funciones conocidas: estabilizar el factor VIII (factor antihemofílico A) en la sangre y ayudar a la adhesión de las plaquetas al subendotelio, lo que les permite proporcionar hemostasia de manera más eficaz. Una persona afectada puede sangrar gravemente si el factor falta o es defectuoso. (Venta, Li, Yuzbasiyan-Gurkan, Brewer, & Schall, 2000)

La enfermedad es el trastorno hemorrágico hereditario más común tanto en perros como en humanos, y es genética y clínicamente heterogénea. Se han descrito tres tipos clínicos, 1, 2 y 3 (anteriormente I, II y III). Se cree que la vWD tipo 1 se hereda de forma dominante, con penetración incompleta en los humanos. En los perros, la vWD tipo 1 parece heredarse de forma recesiva en al menos algunas razas, aunque posiblemente se herede como dominante con penetrancia incompleta en otras. El sangrado parece deberse a la cantidad reducida de vWF en lugar de a una diferencia cualitativa. Aunque el tipo 1 es la forma más común de vWD que se encuentra en la mayoría de los mamíferos y puede causar problemas hemorrágicos graves, generalmente es menos grave que los otros 2 tipos.

Los pacientes con vWD tipo 2 tienen un defecto cualitativo en el vWF, que carece de multímeros de alto peso molecular. Los humanos y los perros afectados tienen una tendencia grave al sangrado. La vWD tipo 2 se hereda de forma dominante en los humanos,

pero se hereda de forma recesiva en los perros. (Venta, Li, Yuzbasiyan-Gurkan, Brewer, & Schall, 2000)

El tipo 3 de la enfermedad de von Willebrand es la forma más grave de la enfermedad. Se hereda como un rasgo autosómico recesivo y los individuos afectados no tienen un factor de von Willebrand detectable en la sangre. Los episodios de sangrado graves requieren transfusiones de sangre o crioprecipitado para reponer el factor de von Willebrand faltante. Los portadores heterocigotos tienen concentraciones de factor moderadamente reducidas, pero en general parecen tener una hemostasia normal. (Venta, Li, Yuzbasiyan-Gurkan, Brewer, & Schall, 2000)

ANTECEDENTES

El hígado desempeña un papel esencial tanto en el sistema de coagulación como en el sistema fibrinolítico. El hígado sintetiza todos los factores de la coagulación, con la excepción del factor VIII, y también produce los inhibidores de la coagulación y de la fibrinólisis (Nelson & Couto, 2010). La hemostasia se inicia con una vasoconstricción (noradrenalina, serotonina) y continúa con la agregación plaquetaria (tromboxano A₂, factor de von Willebrand y otros). Luego sobreviene la coagulación, para culminar con la retracción (retractozimina) y fibrinólisis (fibrinolisisina). El factor VIII proviene del endotelio y consta de una fracción coagulante y otra agregante plaquetaria denominada factor de von Willebrand (Coppo, 2015).

Erik Adolf von Willebrand (1870-1949) fue el médico finlandés que descubrió la «hemofilia vascular», enfermedad que hoy lleva su nombre. En 1925 examinó a una niña de 5 años cuyos hermanos habían muerto por hemorragias. Madre y padre tenían antecedentes familiares de sangrado profuso. Investigó la genealogía y encontró que 23 de los 66 miembros familiares padecían del aumento del tiempo de sangría. Concluyó que se trataba de una forma desconocida de hemofilia (era padecida por ambos sexos) y la denominó «seudo-hemofilia». Demostró que la concentración de plaquetas de los pacientes era normal, pero que no funcionaban adecuadamente. Con Jürgens, inventor de un «trombómetro capilar», en 1931 llegan a la errada conclusión de que se trataba de un defecto de los trombocitos. Recién en la década de 1950 la tecnología permitió descubrir el origen del trastorno (Coppo, 2015).

Enfermedad de von Willebrand

Es la deficiencia de una glucoproteína que circula por sangre unida al factor VIII. También existe en el endotelio y en las plaquetas. La transmisión es autosómica dominante.

La seudohemofilia es la coagulopatía más común en medicina veterinaria. Ha sido descrita en alrededor de 50 razas de gatos y perros, especialmente en Doberman, Shetland y Terriers. El factor de von Willebrand es necesario para la agregación de las plaquetas y también para su unión con el sub-endotelio (colágeno, elastina), a través de la glucoproteína 1b-IX.

La enfermedad cursa con hemorragias espontáneas en mucosas externas e internas de las vías digestiva, urinaria, respiratoria y genital, en el último caso relacionadas al estro y al parto. Raramente se verifican petequias. Es frecuente la muerte *in útero*. Los recién nacidos

sangran profusamente a través del cordón umbilical. El estrés exacerba los síntomas. Son pacientes de alto riesgo quirúrgico.

El laboratorio revela aumentos notorios del tiempo de sangría, a veces acompañado por el retardo del KPTT. Las plaquetas aparecen en concentración normal. El diagnóstico se confirma por inmunoelectroforesis y enzimoimmunoensayo (ELISA que evalúa la capacidad de unión entre plaquetas y colágeno). Los síntomas ceden transitoriamente al administrar crioprecipitado o plasma fresco congelado.

Pruebas evaluadoras de la hemostasia

Para efectuarlas, tener en cuenta que la extracción de la muestra debe efectuarse preferentemente con jeringas siliconadas, para evitar la activación del XII («factor de superficie rugosa»). La punción venosa debe ser certera; la sangre no debe contener restos de tejido. El anticoagulante de elección debe ser citrato al 3,8%, empleándolo en proporción 1:9 con la sangre.

En la mayoría de los casos, el laboratorio debe recibir plasma, el cual se obtendrá por centrifugación, efectuada antes de los 30 minutos post-extracción. La muestra debe ser enviada de inmediato, caso contrario (poco recomendable), puede conservarse congelada a - 20°C.

Frascos, tubos y resto del material de vidrio utilizado para enviar o procesar sangre destinada a pruebas coagulativas, debe haber sido tratado con mezcla sulfocrómica (Coppo, 2015).

Prueba Factor von Willebrand: Ante sospechas de deficiencia de este factor endotelial coadyuvante de la agregación plaquetaria, puede efectuarse su determinación por ELISA (foto) o inmunodifusión. Se aconseja realizarlo previamente a un acto quirúrgico y también antes de seleccionar pareja para el apareamiento, especialmente si se trata de la raza Doberman. Los estados inflamatorios interfieren los resultados, dado que el factor von Willebrand es una «proteína de fase aguda» (Coppo, 2015).

MARCO DE REFERENCIA

La enfermedad de von Willebrand es el trastorno hereditario más frecuente de las proteínas de la coagulación en los seres humanos. Existen 3 tipos: 1, 2A, 2B, 2N, 2M, y 3. Está asociada a mutaciones en el cromosoma 12, en la región p13.2, que codifica para el factor de von Willebrand (VWF), el cual se sintetiza en las células endoteliales y megacariocitos.

La biología molecular ha permitido la caracterización del gen del VWF, adquiriendo un papel importante en el diagnóstico la enfermedad de von Willebrand así como en la investigación de alteraciones en otros genes, que pueden estar involucrados en la regulación de la síntesis, procesamiento y secreción del VWF. Sin embargo, aún no se han integrado las estrategias de biología molecular entre las pruebas de diagnóstico disponibles. (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015)

El análisis de los multímeros del VWF es una metodología que cumple con las características para el diagnóstico, pero no es fácil de estandarizar (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015). Incluso en medicina humana, los enfermos de von Willebrand no cuentan con un diagnóstico definitivo, es necesario implementar estas metodologías para su estudio y mejorar su diagnóstico.

La enfermedad de von Willebrand es heterogénea debido a los mecanismos moleculares que producen los distintos fenotipos clínicos y de laboratorio. En México existen pocos trabajos relacionados con esta enfermedad, por ello es fundamental realizar un estudio integral que incluya aspectos clínicos, pruebas de laboratorio básicas y especiales, para establecer el diagnóstico correcto, desarrollar nuevos enfoques terapéuticos, y así ofrecer atención médica y asesoramiento genético adecuados (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

El ensayo de unión a colágeno de vWF:CB es particularmente sensible a variantes de von Willebrand caracterizadas por la ausencia de los multímeros más grandes. Por lo tanto, vWF:CB se utiliza a menudo como una alternativa al análisis multimérico para distinguir vWF2A de vWF2M. Sin embargo, en pacientes con mutaciones en el dominio A3 (W1745C y S1783A) con estructura normal, el vWF:CB/Ag es anormal en presencia de vWF:RCO normal (Federici, 2016).

Hipótesis

La prueba de unión del factor Von Willebrand al colágeno (VWF:CB) (microELISA) resulta ser más efectiva en el diagnóstico de la Enfermedad de Von Willebrand en caninos.

Objetivo

- 1) Revisar en la bibliografía las diferentes pruebas para detectar el factor Von Willebrand:
 - Concentración plasmática total de antígeno del factor de von Willebrand (FvW)
 - Prueba de función de VWF
 - Nivel de factor VIII en plasma
 - Tiempo de tromboplastina parcial (TTP)

(Kuter, 2022)

- 2) Comparar las pruebas diagnósticas en la medicina humana con la medicina veterinaria.

MATERIAL Y/O MÉTODOS

Se generó una reserva de plasma normal a partir de sangre citratada (1 parte de citrato: 9 partes de sangre) obtenida de 7 perros donantes de sangre, del Ontario Veterinary College-Veterinary Teaching Hospital (OVC-VTH), mediante venopunción yugular no traumática. Los 3 perros hembras y 4 perros machos que componían este grupo tenían una edad estimada de entre 2 y 5 años, e incluían greyhounds y perros mestizos. Dentro de la hora posterior a la recolección, la sangre citratada se centrifugó a $1500 \times g$ durante 20 minutos a temperatura ambiente; se extrajo el plasma, se agrupó y luego se almacenó en alícuotas de 100 y 200 μl a -80°C hasta que se necesitó.

Se recolectó un total de 183 muestras de plasma de caninos clínicamente sanos de clínicas veterinarias cerca de Guelph y del OVC-VTH. Tras la recolección, las muestras se dividieron en tubos de plasma citratado y tubos de recolección de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). De las 183 muestras de pacientes, 176 se obtuvieron mediante venopunción yugular no traumática. Las 7 muestras restantes se obtuvieron mediante venopunción cefálica no traumática debido a limitaciones de sujeción o problemas de salud, como enfermedad de la columna cervical o inestabilidad vertebral cervical, que impidieron la toma de muestras de la yugular. Todas las muestras se obtuvieron con una aguja desechable afilada, y la sangre se decantó a lo largo de la pared del tubo de anticoagulante sin tapa antes de una inversión suave. La población de muestra incluyó 100 hembras y 83 machos con una edad promedio de 4,8 años (rango: 0.25-13 años) y las siguientes razas: Doberman pinscher ($n = 125$), Manchester terrier ($n = 13$), mestizo ($n = 10$), greyhound ($n = 8$), setter irlandés ($n = 6$), tervueren belga ($n = 6$), golden retriever ($n = 3$), boyero bernés ($n = 2$), setter inglés ($n = 2$), labrador retriever ($n = 1$), schnauzer estándar ($n = 1$), pastor de Shetland ($n = 1$), retriever de pelo liso ($n = 1$), staffordshire terrier ($n = 1$), plotthound ($n = 1$) y gran danés ($n = 1$). Para evitar la influencia de la edad en nuestra población de muestra, los pacientes menores de 12 semanas de edad fueron excluidos del estudio, ya que las concentraciones de vWF:Ag generalmente se acercan a los valores medios de los adultos a las 11 semanas de edad. No se recogieron muestras de pacientes manifiestamente enfermos; sin embargo, varios trastornos subclínicos crónicos estaban presentes en la población, por ejemplo, miocardiopatía dilatada, hipotiroidismo, inestabilidad vertebral cervical, incontinencia urinaria, enfermedad del disco intervertebral, alergias alimentarias o cutáneas y artritis. Por lo tanto, los medicamentos en la población muestreada incluyeron dietilestilbestrol ($n = 3$), fenilpropanolamina ($n = 4$), levotiroxina ($n = 13$), medicamentos

cardíacos (n = 2), antiinflamatorios no esteroides (n = 7), corticosteroides de dosis baja (n = 1), antibióticos (n = 4) y una variedad de suplementos no medicinales (n = 17). Aunque se ha sugerido una asociación entre la vWD y el hipotiroidismo, los pacientes con hipotiroidismo mencionados anteriormente estaban bien controlados y, por lo tanto, esta condición no se consideró un factor de confusión. De manera similar, los 7 animales tratados con antiinflamatorios no esteroides no fueron excluidos del estudio. El uso de esta medicación no pareció afectar la función plaquetaria de estos animales cuando se evaluó con el cartucho PFA-100 ADP, lo que es consistente con los resultados de un estudio en humanos. Se recogieron muestras raras durante el estro, ya que se ha demostrado que no hay un cambio significativo en la concentración de vWF durante el ciclo estral. Dentro de las 3 hrs posteriores a la recolección, se analizaron 800 µl de sangre citratada utilizando el analizador de plaquetas PFA-100 (Dade Behring, Newark, Delaware, EE. UU.). Luego, la sangre citratada se centrifugó a 1500 × g durante 20 min a temperatura ambiente; se recolectó el plasma y se dividió en alícuotas que variaban de 10 µl a 800 µl. El tiempo de tromboplastina parcial se determinó inmediatamente en la muestra de plasma. Como control externo, cada una de las 183 muestras de pacientes se analizó utilizando el ensayo ELISA Asserachrom vWF:Ag, utilizando el lote n°2 de la norma de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH) para crear una curva estándar, a partir de la cual se determinó el % de vWF. Se congeló inmediatamente una alícuota del plasma del paciente para este propósito. Las alícuotas restantes se almacenaron a -80 °C hasta que las muestras se pudieron procesar por lotes y se realizaron los ensayos restantes (mínimo 1 día, máximo 3,5 meses). La sangre con EDTA se envió inmediatamente al Laboratorio de Salud Animal de la Universidad de Guelph para el recuento de plaquetas y el hematocrito.

El analizador PFA-100 se utilizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se realizó una autopruueba del instrumento al comienzo de cada día de muestreo para garantizar el funcionamiento adecuado (Burgess, Woods, Abrams-Ogg, & Wood, 2009).

La actividad del factor VIII se evaluó con el Sigma-Amelung KC4Δ™, utilizando metodologías estándar, con la excepción de que se utilizó Alexina AMAX, diluida 1 en 5 con tampón de imidazol AMAX, como activador. Cada muestra se analizó por duplicado. Se produjo una curva estándar de cuatro puntos, con concentraciones que oscilaban entre 1 en 10 y 1 en 80, para cada conjunto de muestras por lotes utilizando una reserva de plasma canino normal. Los resultados del FVIII se presentaron como un porcentaje del grupo de

plasma canino normal. Para este estudio se utilizaron intervalos de referencia desarrollados previamente en la Ontario Veterinary College, Universidad de Guelph (54% a 197%).

Los ensayos vWF:CBA y OVC vWF:Ag desarrollados recientemente fueron realizados por un solo operador (HB). Se ha proporcionado una descripción de la metodología del ensayo en otro lugar. Estos ensayos han sido validados previamente para la enfermedad de tipo 1 y se han determinado los intervalos de referencia. Los intervalos de referencia para el ensayo vWF:Ag de OVC son los siguientes: concentración alta de vWF 74% a 131%, intermedia 31% a 73% y baja 0% a 30%. Los intervalos de referencia correspondientes para el nuevo ensayo vWF:CBA son: función alta de vWF 102% a 169%, función intermedia 32% a 101% y función baja 2% a 31%. Como se mencionó anteriormente, estos intervalos se han utilizado históricamente para predecir el estado genético, agrupando a los perros como negativos al rasgo de vWD, indeterminados y positivos al rasgo de vWD, respectivamente (Burgess, Woods, Abrams-Ogg, & Wood, 2009).

RESULTADOS

El grado de asociación entre los ensayos de perfil de diagnóstico de vWD se informa en la Tabla I. El vWF:CBA muestra una fuerte asociación positiva tanto con el ensayo vWF:Ag desarrollado recientemente como con el ensayo vWF:Ag de Asserachrom (0.82 y 0.86, respectivamente), mientras que el PFA-100 tiene una fuerte asociación negativa con estos ensayos (-0.80 y -0.82, respectivamente). El nivel de asociación entre los resultados de PFA-100 y los resultados de vWF:CBA, aunque no tan fuerte como la asociación de cualquiera de las pruebas con la concentración de vWF:Ag, es sustancial en 0.68. La asociación entre FVIII y el ensayo vWF:Ag desarrollado recientemente, el ensayo vWF:Ag de Asserachrom, VWF:CBA y PFA-100 fue aceptable (0.34, 0.31, 0.27 y -0.47, respectivamente); sin embargo, fue insuficiente para cualquier reconocimiento de patrones en los datos brutos. **El nivel de asociación entre el PTT y la actividad del factor VIII fue bajo. No hubo asociación significativa entre el PTT o el recuento de plaquetas con ninguno de los otros ensayos.**

Tabla I. Grado de asociación entre los resultados de los análisis de perfil de diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand. El grado de asociación se representa como un coeficiente de correlación de Spearman (r_s) para datos no paramétricos, o un coeficiente de determinación (R^2) para datos paramétricos.

Table I. Degree of association between vWD diagnostic profile assay results. Degree of association is portrayed as either a Spearman correlation coefficient (r_s) for nonparametric data, or a coefficient of determination (R^2) for parametric data

	vWF:CBA	PFA-100	FVIII	PTT	Platelet count
Asserachrom vWF:Ag	$R^2 = 0.86$ ($P < 0.0001$) ^a	$r_s = -0.82$ ($P < 0.0001$) ^b	$R^2 = 0.31$ ($P < 0.0001$) ^a	$r_s = -0.085$ ($P = 0.2532$) ^a	$r_s = -0.07$ ($P = 0.3624$) ^a
OVC vWF:Ag	$R^2 = 0.82$ ($P < 0.0001$) ^a	$r_s = -0.80$ ($P < 0.0001$) ^b	$R^2 = 0.34$ ($P < 0.0001$) ^a	$r_s = -0.12$ ($P = 0.0964$) ^a	$r_s = -0.10$ ($P = 0.1698$) ^a
vWF:CBA		$R^2 = 0.68$ ($P < 0.0001$) ^b	$R^2 = 0.27$ ($P < 0.0001$) ^a	$r_s = -0.06$ ($P = 0.4644$) ^a	$r_s = -0.04$ ($P = 0.5645$) ^a
PFA-100			$r_s = -0.47$ ($P < 0.0001$) ^b	$r_s = 0.09$ ($P = 0.2160$) ^b	$r_s = 0.05$ ($P = 0.5022$) ^b
FVIII				$R^2 = 0.08$ ($P < 0.0001$) ^a	$R^2 = 0.00$ ($P = 0.9829$) ^a

^a Sample size = 183.

^b Sample size = 177.

Activar Windc
Ve a Configuración

En relación con el estado de vWD, se presentan en la Tabla II. Los valores atípicos no se eliminaron para ninguno de estos resúmenes.

Tabla II: Media y rango de los resultados del ensayo de perfil diagnóstico, con respecto a la concentración de vWF.

Table II. Mean and range of diagnostic profile assay results, with respect to vWF concentration

vWD Status	Asserachrom vWF:Ag (%)	OVC vWF:Ag (%)	vWF:CBA (%)	PFA-100 (s)
Low vWF (n = 82)	27.0 (1.00–48.0)	26.0 (1.00–81.0)	34.0 (1.00–108)	139 (52.0–300) ^a
Intermediate (n = 55)	60.0 (50.0–68.0)	70.0 (27.0–152)	92.0 (36.0–160)	71.0 (51.0–124)
High vWF (n = 46)	83.0 (70.0–125)	96.0 (53.0–170)	124 (78.0–197)	61 (47.0–84.0) ^b

^a Sample size = 77.

^b Sample size = 45.

Aunque el grado de asociación entre los resultados de PFA-100 y la concentración de vWF, según lo determinado por el ensayo OVC vWF:Ag recientemente desarrollado y el ensayo Asserachrom vWF:Ag, se evaluó utilizando datos transformados logarítmicamente, es difícil apreciar visualmente la relación clínica después de la transformación logarítmica. Cuando se examinaron los datos no transformados, se hizo evidente que los resultados de PFA-100 se prolongaron de manera constante una vez que las concentraciones de vWF:Ag, determinadas por el ensayo vWF:Ag recientemente desarrollado y el ensayo vWF:Ag de Asserachrom, fueron menores al 20% y 24%, respectivamente.

Resultados de PFA-100, actividad del factor VIII y vWF:CBA fueron comparados entre 2 grupos de perros que no tenían vWD (grupo 1 compuesto por Doberman pinschers, grupo 2 compuesto por perros no Doberman), y un grupo de Doberman pinschers con vWD (grupo 3), como se describió anteriormente. Usando la prueba de Tukey-Kramer, hubo una diferencia significativa detectada entre los grupos 1 y 3, así como entre los grupos 2 y 3, mientras que no hubo diferencia significativa entre los grupos 1 y 2 (valores P: 0.0009, <0.0001 y 0.1135, respectivamente) usando resultados de PFA-100, y (< 0.0001, < 0.0001, y 1.0097, respectivamente) usando resultados de vWF:CBA. **Los resultados de la actividad del FVIII permitieron distinguir entre perros no Doberman que no**

presentaban vWD (grupo 2) y Doberman pinscher con vWD (grupo 3) con un valor P de $<0,0001$ y, como se esperaba, no se encontró ninguna diferencia significativa entre los grupos 1 y 2 (valor P = 0.3815). Sin embargo, este ensayo no pudo distinguir entre perros Doberman con o sin vWD (valor P: 0.1105) (Burgess, Woods, Abrams-Ogg, & Wood, 2009).

DISCUSIÓN

En el artículo estudiado, *Evaluation of laboratory methods to improve characterization of dogs with von Willebrand disease*, el intervalo de referencia establecido para el cartucho de colágeno/ADP del PFA-100 fue similar al del artículo *Influence of Platelet Count, Acetylsalicylic Acid, von Willebrand's Disease, Coagulopathies, and Haematocrit on Results Obtained Using a Platelet Function Analyser in Dogs* (Mischke & Keidel, 2003). Aproximadamente el 38% de los pacientes utilizados para formular el intervalo de referencia para el PFA-100 eran pinschers Doberman y, como resultado, la población estaba algo sesgada por esta raza. Sin embargo, la afiliación bien conocida de esta raza con la vWD sugirió que su inclusión reflejaba con mayor precisión la población objetivo. La similitud entre el intervalo de referencia y el publicado previamente sugiere que pudieron representar a la población general, a pesar del predominio de los Doberman en el conjunto de datos, sino también que la hemostasia primaria en los pinschers Doberman negativos a la vWD, según lo determinado por el PFA-100, no fue significativamente diferente de otras razas. El ensayo OVC vWF:Ag ha sido validado previamente y ha demostrado una excelente concordancia (correlación de concordancia de 0.89) con el ensayo Asserachrom vWF:Ag disponible comercialmente, utilizado como control externo en el estudio (Burgess, Woods, Abrams-Ogg, & Wood, 2009).

En 1998, se realizó una investigación con perros raza Spaniel holandés, *Evaluation of recombinant von Willebrand factor in a canine model of von Willebrand disease*, en la cual obtuvieron que los perros deficientes en vWF utilizados en este estudio presentaron un trastorno hemorrágico similar a la enfermedad de von Willebrand de tipo 3 grave en humanos, caracterizada por antígeno de vWF indetectable, multímeros de vWF indetectables en geles de agarosa y niveles reducidos de FVIII en la circulación. Los niveles de FVIII en estos perros, que eran aproximadamente el 50% de los valores caninos normales, eran más altos que los observados en la enfermedad de von Willebrand de tipo 3 en humanos. Esto podría indicar que el FVIII canino es menos dependiente que el FVIII humano de la estabilización por vWF. La secuencia de FVIII canino difiere en los dominios ácidos entre A1 y A2 y en el extremo N-terminal del dominio A3 de la secuencia humana. Mientras que la secuencia del FVIII canino muestra la conservación de todos los sitios funcionalmente importantes que se encuentran en la secuencia humana, especialmente las regiones próximas a los sitios de escisión de la trombina y los dos sitios de escisión de la proteína C, se encuentran cuatro cambios en el dominio A3 (la región de unión del vWF)

entre los residuos 1666 y 1676 (entre los residuos humanos 1674 y 1684). Los seis residuos de tirosina que se sabe que sufren sulfatación en la proteína humana se conservan en la secuencia del perro. Dado que la región ácida de la cadena ligera en el FVIII humano es esencial para la interacción con el vWF, la diferencia entre el FVIII canino y el humano en esta región podría significar que la interacción con el vWF es de menor importancia en los perros (H. P. SCHWARZ, y otros, 1998).

La Federación Mundial de Hemofilia, coincide que los análisis de laboratorio para el FvW incluyen una prueba inmunológica para detectar niveles generales, Ag:FvW, y pruebas funcionales que reflejan su habilidad de aglutinación de plaquetas normales en presencia de ristocetina, (cofactor de ristocetina FvW:CoR); de ligarse al colágeno (FvW:IC); y de ligarse al FVIII (FvW:IFVIII), en plasma diluido. La aglutinación de plaquetas inducida por ristocetina (APIR) es una prueba de la habilidad del FvW para apoyar la aglutinación por ristocetina en el plasma fresco, sin diluir y rico en plaquetas del paciente. La distribución del tamaño de los multímeros puede demostrarse mediante electroforesis del Ag:FvW. El tiempo de sangrado (TS) o el tiempo de cerrado (TC) con un analizador de la función plaquetaria, como el AFP-100®, puede ser prolongado. La prueba FvW:IFVIII y el análisis de multímeros por lo general se realizan en laboratorios especializados. La única prueba que posiblemente resulte anormal en la EvW es la FvW:CoR, que es baja en todos los tipos de EvW menos en el tipo 2N (Kasper, 2008).

De igual manera, Duboscq y Martinuzzo, proponen el diagnóstico de la enfermedad de von Willebrand, debe realizarse analizando las manifestaciones clínicas y realizando un conjunto de pruebas especiales con un estricto control de las variables preanalíticas. Clásicamente la actividad del VWF se expresa como actividad de cofactor de ristocetina (VWF:RCo) que mide la capacidad del FvW de aglutinar las plaquetas en presencia de ristocetina. Es determinada por agregometría, un método laborioso y de alto coeficiente de variación (CV), pero que hasta hoy es el gold estándar. En los últimos años se ha desarrollado un método inmunoturbidimétrico que determina la actividad de VWF. Diversos trabajos han demostrado, que si bien ambos métodos miden distintas propiedades de la molécula de VWF se observa una buena correlación entre ambas determinaciones en todo el rango de concentraciones, demostrando que ambos métodos son útiles en la práctica clínica (Duboscq & Martinuzzo, 2012).

Fundamento: Es un método inmunoturbidimétrico que utiliza un anticuerpo monoclonal contra el sitio de unión a Plaquetas (Glicoproteína Ib) de la molécula de VWF. Este epitope

reconocido por el anticuerpo se expresa cuando la estructura multimérica es la adecuada, es decir que estén presentes los multímeros de alto peso molecular, de la misma manera que éstos son necesarios para la actividad de VWF:RCO2. Puede realizarse en equipos automatizados (coagulómetros) para los que fue diseñado, como en lectores de ELISA en forma semiautomática. Para esta metodología el CV es menor al 5% (Duboscq & Martinuzzo, 2012).

CONCLUSIONES

La enfermedad de von Willebrand se transmite de forma autosómica dominante, es el trastorno hemorrágico hereditario más frecuente. Está causada por la disminución de la cantidad de VWF o por la presencia de un VWF cualitativamente anormal en la circulación. En raras ocasiones, la enfermedad de von Willebrand puede ser un trastorno adquirido. Las manifestaciones de la enfermedad son hemorragias cutáneas mucosas (epistaxis, sangrado de encías, hemorragia de otras mucosas, equimosis, sangrado en procedimientos odontológicos, etc.). Su diagnóstico depende totalmente de pruebas de coagulación de laboratorio y su clasificación exige estudios especiales (como la determinación de los multímeros del VWF). Es importante clasificar el tipo, ya que esto es importante para elegir el tratamiento. La mayoría de las veces el tratamiento es con desmopresina, y solo en los casos más graves se reemplaza el factor (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

Diagnóstico clínico

Una historia clínica veraz, detallada y completa permitirá al médico hacer una aproximación sobre el tipo de alteración de la hemostasia existente. Debe sospecharse en personas con hemorragias mucocutáneas excesivas, como hematomas sin traumatismos reconocidos, de aparición espontánea o con traumatismos mínimos; además, la hemartrosis es siempre anormal e indica la existencia de una coagulopatía grave. Lo mismo puede decirse de los hematomas musculares espontáneos. Ambos son un síntoma esencial de la hemofilia, y su aparición es muy rara en otras diátesis hemorrágicas, excepto en la enfermedad de von Willebrand grave, especialmente el tipo 3 y, asimismo, hemorragias nasales recurrentes prolongadas y hemorragias de la cavidad bucal, incluyendo sangrado de encías después del cepillado de dientes o uso de hilo dental, o sangrado prolongado después del pulido de manchas o extracciones.

Incluso puede haber hematuria, sangrado excesivo o prolongado después de una cirugía o traumatismo. También es importante tener en cuenta varios otros factores, algunos de los cuales aumentan la concentración del VWF: embarazo, ejercicio, trauma, cirugía, edad; y su nivel es mayor en personas con tipo sanguíneo A que en el tipo sanguíneo O. Por otro lado, otros factores provocan su disminución: hipertiroidismo, insuficiencia renal, enfermedad hepática, aterosclerosis, condiciones inflamatorias, cáncer, diabetes e

hipotiroidismo (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

Pruebas de laboratorio químico hematológico

El laboratorio químico hematológico aporta información muy útil que debe interpretarse en relación con el contexto clínico, lo que proporciona una mayor probabilidad de un diagnóstico definitivo y un tratamiento adecuado. Las pruebas se dividen en básicas, que permiten tener una idea general del estado del paciente, entre las que se encuentran: citometría sanguínea, tiempo de sangrado, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcialmente activada y tiempo de trombina; posteriormente, pruebas que estudian la hemostasia primaria, secundaria y fibrinólisis, así como pruebas encaminadas al diagnóstico de problemas trombóticos.

Pruebas básicas

Las pruebas básicas son el recuento de plaquetas, el tiempo de sangrado, el tiempo de protrombina, el tiempo de tromboplastina parcialmente activada y el tiempo de trombina. Las 2 primeras exploran la hemostasia primaria, mientras que las 3 restantes evalúan la hemostasia secundaria. Si los resultados son normales, salvo casos excepcionales, se descartan trastornos hemostáticos de trascendencia clínica. Su prolongación puede deberse a la deficiencia de un factor o a la existencia de un anticuerpo inhibidor de las proteínas de la coagulación. La corrección, o no, de la prueba, al mezclar el plasma del paciente con plasma normal, mostrará si se trata de una deficiencia o de un inhibidor (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

Pruebas específicas

Las pruebas específicas permiten cuantificar factores individuales. Se utilizan cuando una o más pruebas básicas están alteradas o cuando, siendo normales, hay sospecha clínica de una coagulopatía sistémica. Existen 3 tipos: de prueba, funcionales e inmunológicas. Las primeras, a su vez, pueden ser métodos coagulométricos que utilizan plasmas con déficit del factor a analizar (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

Los métodos inmunológicos, a través de anticuerpos, evalúan la concentración del antígeno de la proteína (pero no su función). Una discrepancia entre los niveles obtenidos mediante

métodos funcionales y métodos inmunológicos revela la existencia de anomalías moleculares.

Dentro de los tests específicos se encuentra la actividad del VWF como cofactor de la ristocetina (VWF:RCo), que depende de la presencia de grandes multímeros, VWF antigénico (VWF:Ag), coagulante del FVIII (FVIII:C), agregación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA); la mayoría de los subtipos presentan una disminución de la respuesta a la ristocetina, que es un agonista del receptor de GpIb-IX y del VWF. También podemos incluir la capacidad de unión del VWF al colágeno y al FVIII:C (VWF:CB y VWF:VIII) y el análisis de la función plaquetaria (PFA-100 ®). Este último podrá sustituir en el futuro el tiempo de sangrado, cuyo uso es muy controvertido (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

Análisis de los multímeros del factor de von Willebrand

El análisis de los multímeros del VWF, en función de su peso molecular, se realiza mediante electroforesis. Los multímeros se visualizan mediante autorradiografía tras la incubación con anticuerpos contra el VWF marcados con inmunoperoxidasa o fosfatasa alcalina. Esta técnica permite un diagnóstico definitivo de los diferentes tipos de enfermedad de von Willebrand en función de su patrón de multímeros, y se realiza únicamente en los laboratorios de referencia (Hernández-Zamora, Zavala-Hernández, Quintana-González, & Reyes-Maldonado, 2015).

El objetivo del estudio consultado, *Evaluation of laboratory methods to improve characterization of dogs with von Willebrand disease*, fue investigar el valor de pruebas adicionales [recuento de plaquetas, tiempo de tromboplastina parcial (PTT), análisis de la función plaquetaria utilizando el PFA-100, ensayo de unión al colágeno (vWF:CBA) y actividad del factor VIII], para su uso junto con el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) del antígeno del factor von Willebrand, como parte de un perfil de diagnóstico desarrollado recientemente para una mejor caracterización de los pacientes con enfermedad de von Willebrand (vWD). La población del estudio incluyó 183 caninos clínicamente sanos con una concentración de vWF:Ag que oscilaba entre el 1% y el 125%. El ensayo ELISA vWF:Ag de Asserachrom se utilizó como control externo para la determinación del estado de vWD. Se evaluó el grado de asociación entre las pruebas adicionales y la concentración de vWF, y también se evaluaron las asociaciones entre las pruebas adicionales, incluida su capacidad para distinguir a los perros con vWD de los que

no la padecen. Además, se determinó un intervalo de referencia para el analizador de la función plaquetaria PFA-100. Se encontraron asociaciones fuertes entre el PFA-100, el vWF:CBA y el ensayo Asserachrom vWF:Ag, y una asociación significativa entre el PFA-100 y el vWF:CBA. Se detectó una asociación entre la actividad del factor VIII y el ensayo Asserachrom vWF:Ag, el vWF:CBA y el PFA-100; sin embargo, no se observó un patrón correspondiente de manera visual en los datos brutos, lo que hizo que la asociación fuera clínicamente irrelevante. La asociación entre el recuento de plaquetas y el PTT con las otras pruebas adicionales fue insignificante. Según nuestros resultados, el vWF:CBA y el PFA-100 serían activos valiosos, junto con un ensayo vWF:Ag, en un perfil de diagnóstico de vWD canino para caracterizar aún más a los pacientes con esta enfermedad (Burgess, Woods, Abrams-Ogg, & Wood, 2009).

ABREVIACIONES

CBA: Collagen Binding Assay (ensayo de unión a colágeno)

KPTT: Kaolin activated Partial Tromboplastin *Time* (tiempo de tromboplastina parcial activado con caolín)

OVC: Ontario Veterinary College

PTT: Partial Thromboplastin Time

vWF:Ag : Antígeno del factor von Willebrand

vWD: Von Willebrand disease

vWF: von Willebrand factor

VWF:RCo : cofactor of ristocetin

Bibliografía

- Burgess, H. J., Woods, J. P., Abrams-Ogg, A. C., & Wood, R. D. (2009). Evaluation of laboratory methods to improve characterization of dogs with von Willebrand disease. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 252-259.
- Coppo, J. A. (2015). *Interpretación de análisis clínicos en perros y gatos*. Salta, Argentina: EUCASA Universidad Católica de Salta.
- Duboscq, C., & Martinuzzo, M. (2012). Actividad de Factor von Willebrand. *HEMATOLOGIA*, 47-48.
- Federici, A. (2016). Current and emerging approaches for assessing von Willebrand disease in 2016. *International Journal of Laboratory Hematology*, 41-49.
- H. P. SCHWARZ, F. D., MITTERER, A., MUNDT, W., SCHLOKAT, U., PICHLER, L., & TURECEK, & P. (1998). Evaluation of recombinant von Willebrand factor in a canine model of von Willebrand disease. *Haemophilia*, 53-62.
- Hall, J. E. (2016). Hemostasia y coagulación sanguínea. En J. E. Hall, *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica* (págs. 1183-1210). Barcelona: Elsevier España.
- Hernández-Zamora, E., Zavala-Hernández, C., Quintana-González, S., & Reyes-Maldonado, E. (2015). von Willebrand disease, molecular biology and diagnosis. *CIRUGÍA y CIRUJANOS*, 255-264.
- Kasper, C. K. (2008). *TRASTORNOS HEREDITARIOS DE LOS FACTORES DE COAGULACIÓN PLASMÁTICOS Y SU MANEJO*. Montréal, Québec: Federación Mundial de Hemofilia (FMH).
- Kuter, D. J. (Junio de 2022). *Enfermedad de Von Willebrand*. Obtenido de Manual MSD: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/trombocitopenia-y-disfunci%C3%B3n-plaquetaria/enfermedad-de-von-willebrand>
- Mischke, R., & Keidel, A. (2003). Influence of Platelet Count, Acetylsalicylic Acid, von Willebrand's Disease, Coagulopathies, and Haematocrit on Results Obtained Using a Platelet Function Analyser in Dogs. *The Veterinary Journal*, 43-52.
- Nelson, R. W., & Couto, G. (2010). *Medicina interna de pequeños animales*. España: Elsevier Mosby.
- Venta, P. J., Li, J., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Brewer, G. J., & Schall, W. D. (2000). Mutation Causing von Willebrand's Disease in Scottish Terriers. *The Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10-19.



**Universidad Nacional Autónoma de
México.**



**UNAM
CUAUTITLÁN**

U.N.A.M

**Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Campo 4**

Dpl. Medicina de Laboratorio Basada en Evidencia

**“Integración diagnóstica: Prueba de fragilidad
eritrocitaria en caninos.”**

Profesores:

MVZ Castañeda Aceves Graciela

MVZ Valdivia de Anda Guillermo

Alumno:

De La Sancha Sandoval Andres.

315010743

07-08-2024

Índice

1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	4
3. Objetivos.....	5
4. Material y métodos.....	5
5. Resultados.....	8
6. Interpretación	9
7. Discusión	10
8. Conclusión	12
9. Bibliografía.....	12

1. Introducción

La composición de la membrana de los eritrocitos determina su elasticidad y deformidad e influye en la capacidad del eritrocito para resistir el estrés osmótico. (Velázquez, 2014)

La prueba de fragilidad eritrocitaria osmótica en perros, es una técnica utilizada para detectar la habilidad de los glóbulos rojos para incrementar el volumen cuando son sometidas a soluciones hipotónicas de cloruro de sodio (NaCl) de concentraciones variables. En complementación con análisis clínicos de rutina ayuda a la detección de esferocitosis, deficiencias enzimáticas, intoxicaciones y enfermedades hepáticas. En la anemia hemolítica inmunomediada es frecuente en el uso de esta prueba (Cribb, 1986)

Debido a que los esferocitos tienen una relación superficie/ volumen disminuido, tienen una capacidad disminuida para aumentar su volumen y se lisan a una concentración de sales más elevada que las células normales (Herrera, 2002).

La anemia hemolítica inmunomediada (AHIM) canina resulta de la destrucción prematura de eritrocitos debido a la fijación de anticuerpos a antígenos propios o extraños ubicados sobre la membrana celular; la anemia aparece por la incapacidad de la médula ósea para compensar la elevada destrucción eritrocitaria. Por lo tanto, la prueba de fragilidad eritrocitaria es una opción para diagnosticar esta enfermedad en caninos (Ruiz, 2014)

2. Antecedentes

La prueba de fragmentación eritrocitaria en caninos suele utilizarse como una forma adicional de evaluar a los eritrocitos, con el fin de detectar membranopatías y que debe ser evaluada en complemento a análisis clínicos de rutina (Igbokwe, 2018).

Los glóbulos rojos están en equilibrio osmótico con el plasma circundante. Si parte de la membrana de los glóbulos rojos se pierde sin hemoglobina (Hb) u otros componentes osmóticamente activos, el volumen de los glóbulos rojos tiende a disminuir y la concentración de Hb intracelular y la presión osmótica aumentan. Esto da como resultado la absorción de agua por parte de los glóbulos rojos, lo que restablece el equilibrio osmótico. Por lo tanto, la concentración de Hb intracelular y el volumen de eritrocitos permanecen sin cambios, pero la célula normalmente discoidea se vuelve más esférica. Además, la cantidad de agua que pueden absorber los glóbulos rojos in vitro en una solución salina hipotónica disminuye porque la superficie de membrana más pequeña reduce el volumen celular máximo (Olayemi, 2009).

La disminución de la fragilidad osmótica también puede estar asociada con enfermedades hereditarias, incluidas la estomatocitosis y la deficiencia de espectrina. Los estomatocitos son glóbulos rojos con una forma intermedia entre la forma discoidea normal y un esferocito. Los estomatocitos pueden reconocerse fácilmente en frotis de sangre porque tienen una palidez central en forma de hendidura, que se asemeja a una boca (estoma). La estomatocitosis hereditaria se ha descrito en malamutes de Alaska con enanismo de extremidades cortas y en schnauzers miniatura. En estas dos razas, se desconoce el defecto. Además de la estomatocitosis y la estomatocitosis-gastritis hipertrófica (FS-HG) en la gastritis hipertrófica, este síndrome hereditario es característico (Velázquez, 2014).

A pesar de la absorción máxima de agua y la expulsión completa de la membrana celular, no es posible restablecer el equilibrio con el plasma, las células estallan y se produce una hemólisis intravascular. En condiciones en las que la pérdida de membrana se asocia con una pérdida parcial de Hb, los glóbulos rojos pueden no sólo estar inflamados sino también ser más pequeños de lo normal (microesferocitos) (Herrera, 2002).

En perros y gatos, anemia hemolítica inmunomediada (IMHA) es una causa importante de disminución de Resistencia eritrocitaria. La membrana de los glóbulos rojos se pierde porque está dañada por el complemento y/o por fagocitosis parcial. La Hb suele perderse junto con los componentes de la membrana. La detección de microesferocitos en un frotis de sangre es casi una prueba de IMHA, pero su reconocimiento puede ser difícil especialmente en el gato (Igbokwe, 2018).

3. Objetivos

- Evaluar la resistencia de los glóbulos rojos a diferentes concentraciones de solución salina
- Determinar la interpretación de la prueba de fragilidad eritrocitaria osmótica en caninos
- Detectar las alteraciones de membrana eritrocitaria que los vuelven más susceptibles a hemólisis

4. Material y/o métodos

La prueba se centra en la utilización de soluciones desde hipotónicas a isotónicas con el fin de provocar cambios osmóticos y reflejar la resistencia de la membrana del glóbulo rojo, determinando en qué momento la hemólisis se presenta de acuerdo a la concentración de solución utilizada.

Consiste en preparar una batería de 10 a 12 tubos con soluciones decrecientes de cloruro sódico (NaCl), desde la concentración de 0.85% hasta la de 0% (agua destilada).

Materiales

- 15 tubos de ensayo de 12 x75 mm
- Gradilla de unicel o metálica
- Pipeta volumétrica de 5ml
- Micro pipeta de volumen variable de 100 a 1000 μ L
- Centrifugar clínica
- Puntillas amarillas y azules

- Soluciones hipotónicas con las siguientes concentraciones: 0.10%, 0.20%, 0.30%, 0.35%, 0.40%, 0.45%, 0.50%, 0.55%, 0.60%, 0.65%, 0.70%, 0.75%, 0.80%, 0.85%

Método

- 1- Extraer sangre del paciente con anticoagulante EDTA
- 2- Centrifugar la muestra a 2500 RPM por 5 minutos y extraer el concentrado de glóbulos rojos en un tubo limpio

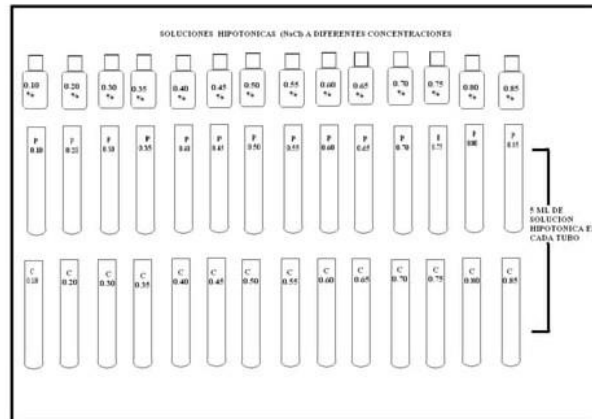


Figura 2. Serie de diluciones en tubo de solución salina partiendo de la concentración de 0.85%

- 3- Realizar diluciones de SSI (0.85%) con volumen final 5 ml, obteniendo las concentraciones finales siguiente (Figura 2): 0.10%, 0.20%, 0.30%, 0.35%, 0.40%, 0.45%, 0.50%, 0.55%, 0.60%, 0.65%, 0.70%, 0.75%, 0.80%, 0.85%, se puede apoyar de la fórmula $V_1C_1 = V_2C_2$
- 4- A 5 mL de cada solución (a las diferentes concentraciones de NaCl) se le añade 100 μ L de la suspensión de eritrocitos al 25 %, se homogeniza la mezcla invirtiendo los tubos suavemente, se deja reposar durante 30 min a temperatura ambiente.
- 5- Centrifugar a 2500 RPM por 5 minutos y observar y se desecha el precipitado

- 6- Se lee la absorbancia del sobrenadante a 540 nm frente al control negativo. Se toma como control negativo el tubo con solución de buffer fosfato salino con una concentración de NaCl de 0,9 %, dado que reproduce las condiciones fisiológicas. Se toma como control positivo un tubo con 0 % de NaCl (agua destilada), que provoca hemólisis máxima. Se calcula el porcentaje de hemólisis según (figura 1) (Yamirka,2015).

Figura 1.

$$\%Hemólisis = \frac{Abs_{x\%}}{Abs_{0\%}} * 100 \quad (1)$$

donde

$Abs_{x\%}$: representa el valor de absorbancia a 540 nm de las muestras a diferentes concentraciones de NaCl.

$Abs_{0\%}$: representa el valor de absorbancia a 540 nm de la muestras a 0 % de NaCl.

5. Resultados

Los resultados de esta prueba se expresan en una curva de hemólisis (figura 3), donde se muestra el porcentaje de glóbulos rojos que se han hemolizado a diferentes concentraciones de solución salina.

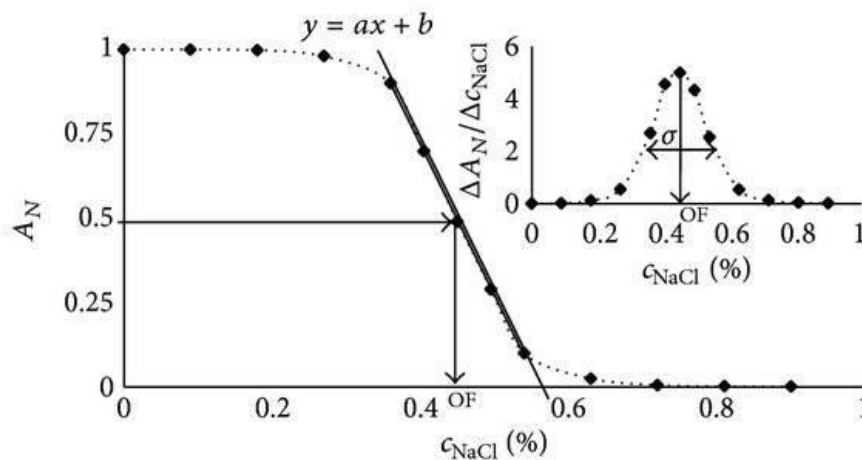


Figura 3. Gráfica de hemólisis para Fragilidad osmótica eritrocitaria, en el eje X se representan concentraciones de soluciones salinas. Eje Y, porcentaje de hemólisis

Cuando los eritrocitos en la prueba de fragilidad osmótica son anormales en las muestras de sangre que tienen relaciones superficie- volumen disminuida. Cuando los eritrocitos se sumergen en soluciones hipotónicas, en las células entra agua hasta que se alcanza un equilibrio. A medida que este fenómeno se desarrolla, las células se hinchan hasta que su volumen interno aumente demasiado y provoque el estallido o lisis celular. Debido a que los esferocitos ya tienen una relación superficie- volumen disminuida en soluciones menos hipotónicas se lisan más que los eritrocitos de forma normal, bicóncavos y por consiguiente tienen fragilidad osmótica (Bodey, 2012).

Una curva normal tiene una forma sigmoide, lo que significa que hay un rango de concentraciones de sal en la que la mayoría de los glóbulos rojos se hemolizan. Si la curva se desplaza hacia la derecha, indica que los glóbulos rojos son más frágiles y se romen en soluciones salinas más concentradas (menos hipotónicas) de lo normal. Esto puede ocurrir en enfermedades como la esferocitosis. La curva a la izquierda indica que los glóbulos rojos son menos frágiles y resisten más tiempo a soluciones diluidas. Esto puede ocurrir en algunas talasemias.

6. Interpretación

La interpretación debe realizarse siempre en complemento con demás hallazgos clínicos y de laboratorio.

Una curva normal tiene una forma sigmoidea, lo que significa que hay un rango de concentraciones de sal en la que la mayoría de los glóbulos rojos se hemolizan. Si la curva se desplaza hacia la derecha, indica que los glóbulos rojos son mas frágiles y se romen en soluciones salinas mas concentradas (menos hipotónicas) de lo normal. Esto puede ocurrir en enfermedades como la esferocitosis. La curva la izquierda indica que los glóbulos rojos son menos frágiles y resisten mas tiempo a soluciones diluidas. Esto puede ocurrir en algunas talasemias. (Kockaya, 2021)

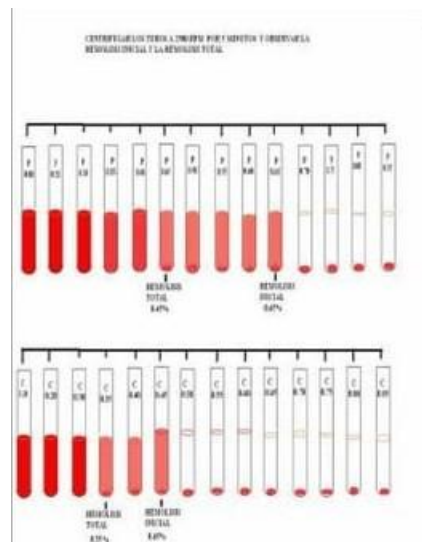


Figura 4. Observación de hemólisis inicial y total de Glóbulos Rojos en SS hipotónicas

% NaCl	% Hemólisis	Desviación estandar
0	100	0
0,1	101	8
0,2	104	10
0,25	104	10
0,3	102	7
0,32	94	9
0,36	84	24
0,4	72	19
0,45	14	11
0,55	2	3
0,7	1	1
0,9	1	1

Tabla 1. Eje. Porcentaje de hemólisis en eritrocitos normales en presencia de soluciones hipotónicas de NaCl a diferentes concentraciones (Yamirka, 2015)

Los resultados (Tabla 1) muestran que la resistencia globular mínima (comienzo de la hemólisis) fue en soluciones de 0,45 % de NaCl y la resistencia globular máxima (hemólisis completa de los eritrocitos) se produce a 0,32 % de NaCl.

7. Discusión

La capacidad de los glóbulos rojos de atravesar el endotelio y llevar oxígeno a los tejidos depende de una membrana plasmática mecánicamente estable pero flexible. La composición lipídica de la membrana de los glóbulos rojos es crucial para mantener su estructura y fluidez. Al carecer de núcleo y tener una capacidad sintética mínima, los glóbulos rojos son extremadamente sensibles a los cambios en los lípidos plasmáticos (Behling, 2014).

La habilidad de los eritrocitos normales para resistir la hipotonicidad proviene de su forma bicóncava y las propiedades elásticas de las membranas, las que permiten que la célula aumente su volumen hasta un 70 % antes de que la membrana se estire; una vez superado este límite ocurre la hemólisis

Los resultados que se obtienen en esta prueba sugieren que el aumento de la hemólisis se debe a que los esferocitos son las células más propensas a hemolizarse en soluciones salinas hipotónicas en comparación con los eritrocitos normales. Esto se debe a que el agua entra más fácilmente en los esferocitos, lo que aumenta la tensión en la membrana y provoca su ruptura. No todos los casos de aumento de la fragilidad osmótica se deben a esferocitosis. (Pues, 2005)

En comparación con otros componentes osmóticamente activos, el volumen de eritrocitos tiende a disminuir y la concentración de Hb intracelular y la presión osmótica tienden a aumentar. Esto último da como resultado la absorción de agua por parte de los glóbulos rojos, lo que restablece el equilibrio osmótico. Por lo tanto, la concentración intracelular de Hb y el volumen de eritrocitos permanecen sin cambios, pero la célula normalmente discoidea se vuelve más esférica. Además, la cantidad de agua que pueden absorber los glóbulos rojos in vitro en una solución salina hipotónica disminuye porque la superficie de membrana más pequeña reduce el volumen (Velázquez, 2014).

La prueba de fragilidad osmótica indica la resistencia de los eritrocitos a la ruptura por acción de la presión osmótica, ejercida sobre la membrana eritrocitaria, al colocarlos en soluciones salinas hipotónicas; es un indicador de la razón volumen/superficie celular, importante para el diagnóstico diferenciado y la evolución de determinados tratamientos (Yamirka, 2015).

La hemólisis mínima (menos del 5 por ciento) y máxima (más del 90 por ciento) de los eritrocitos de los perros clínicamente normales se produjo en soluciones de cloruro de sodio (NaCl) al 0,60 por ciento y al 0,30 por ciento (Bodey, 2011).

Se observa gran dispersión en los valores obtenidos, debido fundamentalmente a la variabilidad biológica entre muestras, que se evidencia en diferencias en la concentración de hemoglobina, el hematocrito y la presencia de estados patológicos, etcétera (Bodey, 2011).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los porcentajes de hemólisis en las soluciones hipotónicas entre 0,1 % y 0,36 % de NaCl para un nivel de significación del 95 %.

8. Conclusión

Debido a que la prueba de Fragilidad Osmótica es una herramienta que facilita la detección de esferocitosis, a través del estrés hídrico a la que es sometido el glóbulo rojo en soluciones hipotónicas e isotónicas de solución salina, por lo tanto la resistencia que tiene esta célula es debida a su membrana de tolerar el ingreso de agua al interior y que, dependiendo de las sustancias que intervienen en la ósmosis homeostática fisiológica, esta estallará o se hemolizará debido a la concentración de solución utilizada. Los resultados obtenidos se evalúan acorde al tubo donde la hemólisis se hará presente, así como la cantidad de hemoglobina libre in vitro y se dará como positivo el resultado en base a la concentración utilizada de la solución salina.

La esferocitosis es un estado de enfermedad en el que los eritrocitos no tienen su morfología habitual similar a la de un disco, en esta patología dichas células son redondas como una esfera, siendo más susceptibles a un rompimiento debido a que su membrana ya se encuentra menos flexible y con menos elasticidad, por lo cual en esta prueba la hemólisis resulta evidente para estas células y que es común en la enfermedad de hemólisis inmunomediada.

La fragilidad eritrocitaria osmótica en caninos es una condición que requiere una evaluación exhaustiva para determinar la causa subyacente y establecer un plan de tratamiento adecuado. Un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno puede mejorar significativamente el pronóstico.

9. Bibliografía

1. Herrera M. (2002). Esferocitosis hereditaria: aspectos clínicos, bioquímicos y moleculares. Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia
2. Ruiz C. (2014) Anemia Hemolítica Autoinmune. Universidad de los Llanos.
3. Pues, G, E. Et al. (2005) El uso de la prueba rápida de fragilidad osmótica como prueba adicional para diagnosticar la anemia Hemolítica inmune mediada canina. Acta Vet Scand.
4. Velázquez M. (2014). Fragilidad osmótica. Universidad Autónoma de Chiapas. Hematología diagnóstica

5. Cribb, P, E et al. (1986). Erythrocyte Osmotic Fragility Testing and the Prediction of Canine Malignant Hyperthermia Susceptibility. PubMed Centra. Can Vet J
6. Olayemi, F. (2009). Study on erythrocyte values of the nigeriano indigenous dog. Folia Veterinaria. Editorial board
7. Igbokwe, N (2018). A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility. Sokoto Journal of Veterinay Sciences. Vol 16 No.4
8. Kockaya, M, E et al. (2021). The Effect of Age and Gender on Some Hematological Parameters and Erythrocyte Osmotic Fragility in Kangal Shepherd Dogs. Ataturk University Journal of Veterinary Sciences. Ataunivbd.
9. Slappendel, R. (1998) Abnormal Osmotic Fragility of Erythrocytes in Dogs and Cats. Veterinary Quarterly.
10. Bodey, A. (2011) Osmotic fragility of erythrocytes in clinically normal dogs and dogs infected with parasites. Elsevier.
11. Bheling, K. (2014) Increases in beta-lipoproteins in hyperlipidemic and dyslipidemic dogs are associated with increased erythrocyte osmotic fragility. Cliinca Veterinary. Wiley online library
12. Yamirka, A. (2015). Characterization of osmotic fragility of human erythrocytes in chronic haemolytic anemia. Centro de Biofísica Médica, Cuba. Revista cubana de química

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN



DIPLOMADO

**Medicina de Laboratorio basada en Evidencia
MLBE**

TRABAJO FINAL: “Marcadores de Daño Cardíaco en Caninos”

Participante:

- Dr. José Miguel Lara Lazo

Docentes:

- Dr. Guillermo valdivia Anda
- MTRA. Graciela Castañeda Aceves

Agosto, 2024

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
III. HIPÓTESIS	4
3.1. Hipótesis afirmativa	4
3.2. Hipótesis nula	4
IV. OBJETIVOS	5
4.1. Objetivo general	5
4.2. Objetivos específicos	5
V. MARCO DE REFERENCIA	6
5.1. Historia de la Cardiología Veterinaria	6
5.2. Marcadores de daño miocitario	6
5.3. Historia de las Pruebas y Métodos Diagnósticos	7
5.4. Implicaciones Clínicas y Limitaciones	11
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	12
6.1. Tipo de investigación	12
6.2. Criterios de Inclusión y Exclusión	12
6.3. Análisis de Datos	13
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
VIII. CONCLUSIONES	15
IX. LITERATURA CITADA	16

I. INTRODUCCIÓN

En la clínica de pequeños animales, las patologías cardíacas son frecuentes y representan una compleja interacción de factores genéticos, inflamatorios, neurohormonales y bioquímicos que afectan a los miocitos y el intersticio cardíaco (Álvarez *et al*, 2012). Tradicionalmente, el diagnóstico de estas alteraciones se realiza mediante radiografías, electrocardiogramas y ecocardiografías. No obstante, pese a la extensa investigación en estas áreas, es un desafío establecer el pronóstico de estos pacientes y evaluar objetivamente la progresión la patología (Correa y Galvis, 2014).

El diagnóstico temprano y preciso es esencial para mejorar los resultados clínicos y prolongar la vida (Jaquete-de la Fuente *et al*, 2019; Correa y Galvis, 2014). Se reconoce que el daño cardíaco provoca un incremento en el nivel de ciertas enzimas, hormonas, sustancias biológicas y otros marcadores de disfunción cardíaca; los cuales pueden medirse en sangre y tienen una importancia clínica significativa (Álvarez *et al*., 2012).

Actualmente, el uso de biomarcadores en cardiología veterinaria no está tan difundido como en otras áreas de la medicina veterinaria, donde se emplean habitualmente para el diagnóstico de diversas patologías sistémicas (Jaquete-de la Fuente *et al*, 2019). Sin embargo, los biomarcadores cardíacos han surgido como herramientas fundamentales para el diagnóstico y monitoreo de enfermedades cardiovasculares en caninos (Álvarez *et al*, 2012). La identificación y comprensión de estos marcadores son cruciales para detectar daño miocárdico, evaluar la gravedad de las afecciones cardíacas y guiar las decisiones clínicas (Jaquete-de la Fuente *et al*, 2019).

Este trabajo tiene como objetivo proporcionar una revisión exhaustiva de los biomarcadores de daño cardíaco en caninos, analizando su utilidad diagnóstica, así como sus características de sensibilidad y especificidad. Al igual que los métodos de detección empleados en laboratorios veterinarios y las enfermedades cardíacas que pueden diagnosticarse mediante estos biomarcadores y los parámetros de referencia para su interpretación, facilitando la toma de decisiones clínicas basadas en evidencias actualizadas.

II. ANTECEDENTES

(Ridker, 2003), investigó la proteína C reactiva (PCR), como indicador de riesgo de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica y la muerte cardíaca súbita; encontrando que los niveles de PCR parecen ser un predictor más fuerte de eventos cardiovasculares que el colesterol LDL; indicando que los niveles de PCR de <1, 1 a 3 y >3 mg/L corresponden a grupos de bajo, moderado y alto riesgo de futuros eventos cardiovasculares respectivamente; resaltando que los individuos con colesterol LDL por debajo de 130 mg/dL con PCR >3 mg/L representan un grupo de alto riesgo que a menudo pasa desapercibido en la práctica clínica.

Por su parte (Horwich *et al*, 2003) evaluaron a 238 pacientes con insuficiencia cardíaca (IC) avanzada y en donde la Troponina I (cTnI) fue detectable en el suero de 117 (49,1%) pacientes. Los pacientes con niveles detectables de cTnI tuvieron niveles significativamente más altos de péptido natriurético tipo B (BNP), deterioro hemodinámico, y disfunción ventricular izquierda progresiva; permitiendo establecer una correlación significativa entre cTnI detectable y la disminución progresiva en la fracción de eyección con el tiempo, al igual que con un mayor riesgo de mortalidad.

Un estudio realizado por Oyama y Sisson (2004) evaluó la utilidad de las troponinas cardíacas como biomarcadores diagnósticos en perros con diversas afecciones cardíacas. Encontraron niveles elevados de troponina I (cTnI) en perros con insuficiencia cardíaca congestiva, demostrando su capacidad para diferenciar entre enfermedades cardíacas primarias y secundarias. Este estudio resalta la importancia de las troponinas cardíacas en el diagnóstico temprano de enfermedades cardíacas caninas, destacando su especificidad y sensibilidad.

(Huerta *et al*, 2005), indicaron que en perros el estrés oxidativo se asocia a problemas renales y cardíacos; los autores afirmaron que la toxicidad de los radicales libres (ROS) se debe a la oxidación y afectación de la función biológica de los lípidos, carbohidratos, proteínas y ácido nucleicos, los cuales generan cardiopatías; sin embargo, pese a la relación entre los ROS y la afección cardíaca, actualmente no tiene relevancia como biomarcador.

Otro estudio significativo, fue realizado por (Wess *et al*, 2010), quienes investigaron la aplicación del fragmento N-terminal del péptido natriurético tipo B (NT-proBNP) en la evaluación de la función cardíaca en perros con enfermedad valvular degenerativa. Los resultados indicaron que los niveles de NT-proBNP estaban significativamente elevados en perros con insuficiencia cardíaca en comparación con perros sanos, sugiriendo su valor en la estratificación del riesgo y el pronóstico de las enfermedades cardíacas.

Finalmente, el estudio realizado por (Álvarez *et al*, 2012) indicó que el uso de la creatina quinasa (CK-MB) como marcador de daño miocárdico en perros puede ser útil para detectar daño muscular; sin embargo, su especificidad para enfermedades cardíacas es limitada, especialmente en presencia de daño muscular esquelético, por lo que los autores hacen énfasis en la necesidad de utilizar CK-MB en combinación con otros biomarcadores más específicos para mejorar la precisión diagnóstica.

Lo anterior concuerda con el estudio de (Gavazza *et al*, 2020), donde se indicó que efectivamente la CK, es activa en músculo cardíaco, pero también en principalmente en los músculos esqueléticos y en el cerebro, y que pese a que se pueden separar tres isoenzimas principales (CK-BB, CK-MB, CK-MM) mediante electroforesis, solo la CK-MB se encuentra en el miocardio. En consecuencia, el aumento de la CK total indica daño muscular total por lo que no es específico de daño cardíaco.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis afirmativa

Las Troponinas son los principales biomarcadores cardíacos para el diagnóstico de enfermedades cardíacas en caninos, permitiendo una detección temprana y un manejo clínico mejorado.

3.2. Hipótesis nula

El fragmento N-terminal del péptido natriurético tipo B, es el biomarcador cardíaco más significativo en el diagnóstico de enfermedades cardíacas en caninos comparado con las troponinas.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar la eficacia y aplicabilidad de los marcadores de daño cardíaco en caninos, identificando sus características diagnósticas y su utilidad en el diagnóstico de enfermedades cardíacas.

4.2. Objetivos específicos

- Indicar los principales biomarcadores de daño cardiacos en los caninos
- Describir los métodos de prueba y la tecnología utilizada para la detección de biomarcadores cardíacos en caninos.
- Exponer los parámetros de referencia para la interpretación de los principales biomarcadores cardíacos en perros.
- Identificar las enfermedades cardíacas que pueden ser diagnosticadas mediante el uso de biomarcadores y el tipo de muestra requerida.

V. MARCO DE REFERENCIA

5.1. Historia de la Cardiología Veterinaria

La cardiología veterinaria ha experimentado un crecimiento significativo en las últimas décadas, con avances en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades cardíacas en animales de compañía. Los primeros diagnósticos de enfermedades cardíacas en perros se basaban principalmente en el examen clínico y la auscultación, con técnicas limitadas para evaluar la función cardíaca y la estructura del corazón. Sin embargo, la introducción de la radiografía, la ecocardiografía y los electrocardiogramas transformaron la capacidad de los veterinarios para diagnosticar y manejar enfermedades cardíacas.

La evolución de la cardiología veterinaria ha sido impulsada por la demanda de los propietarios de mascotas por un cuidado más especializado y la creciente comprensión de la fisiopatología de las enfermedades cardíacas en animales. La investigación en cardiología veterinaria ha llevado al desarrollo de técnicas diagnósticas avanzadas y tratamientos efectivos, mejorando significativamente la calidad de vida de los perros afectados por enfermedades cardíacas.

5.2. Marcadores de daño miocitario

Antes de la disponibilidad de troponinas, los marcadores de lesión de miocitos eran poco utilizados, aunque se describió el uso de la creatin-quinasa (CK) para la identificación de daño en músculo esquelético y miocárdico. (Álvarez *et al*, 2012)

Las troponinas se utilizan con el fin de valorar el efecto que tienen algunas enfermedades cardíacas y extra cardíacas en la integridad del miocardio. Diferentes estudios relacionan la presencia de alteraciones histopatológicas, tanto en cardiomiopatías primarias como secundarias (miocarditis), con el aumento de las troponinas. Este biomarcador representa una medida cuantitativa del daño miocárdico, pero no determina su etiología. (Jaquete-de la Fuente *te al*, 2019)

En algunos estudios, se describe que el grado de aumento de las troponinas es proporcional a la extensión del miocardio dañado, pero los resultados son inconsistentes de acuerdo con estudios similares. (Jaquete-de la Fuente *et al*, 2019)

(Jaquete-de la Fuente *et al*, 2019), también indicó que la concentración de cTnI en perros con síncope cardiogénico es mayor que en perros con convulsiones por epilepsia, pero no se ha identificado un punto óptimo para diferenciar entre ambos. También se han evaluado como biomarcadores sensibles para detectar cardiotoxicidad en perros tratados con doxorubicina.

5.3. Historia de las Pruebas y Métodos Diagnósticos

Según indican (Jaquete-de la Fuente *et al*, 2019), los biomarcadores cardíacos se han convertido en una parte integral del diagnóstico y manejo de enfermedades cardíacas en caninos. Su desarrollo ha sido posible gracias a los avances en las técnicas de laboratorio y la biotecnología. A continuación, se describe la historia y evolución de los principales biomarcadores utilizados en cardiología veterinaria:

- **Troponinas cardíacas (cTnI y cTnT)**

Las troponinas cardíacas fueron identificadas por primera vez como proteínas estructurales específicas del miocardio humano, y su aplicación se extendió rápidamente a la medicina veterinaria (Boswood *et al*, 2007; Correa y Galvis, 2014). Las troponinas son proteínas que forman parte del complejo contráctil del músculo cardíaco, y su liberación en el torrente sanguíneo es indicativa de daño miocárdico (Boswood, 2013). Las investigaciones han demostrado que los niveles de troponinas cardíacas se correlacionan con la gravedad del daño cardíaco y pueden diferenciar entre diversas afecciones cardíacas en perros. (Boswood *et al*, 2007; Correa y Galvis, 2014)

Las isoformas cardíacas de Troponina I (cTnI) y Troponina T (cTnT), no son antigénicamente iguales a las isoenzimas del músculo esquelético siendo sensitivas y específicas marcadoras de isquemia del miocardio, lesión celular y necrosis. (Buembergner y Ricon, 2009)

Las troponinas cardíacas circulantes tienen características ideales para un biomarcador, ya que presentan especificidad cardíaca, alta sensibilidad a las lesiones, diagnóstico temprano de lesiones cardíacas. (Iglesias y Cerro, 2020)

Estas son determinadas mediante ELISA por quimioluminiscencia usando suero o plasma como muestra (Correa y Galvis, 2014), y los parámetros de referencia es de $<0.3\text{ng/ml}$ (Martínez y De Laval, 2024); La sensibilidad y especificidad de la cTnI es reportada de 97% y 95% respectivamente, la cTnI es más sensible que la cTnT en detectar lesión cardíaca tanto en perros como humanos (Buembergner y Ricon, 2009); lo que permite el diagnóstico principalmente de enfermedades inflamatorias del miocardio o enfermedad isquémica. (Boswood, 2013)

En pacientes veterinarios, donde la mayoría de infartos son relativamente raros, cTnI y cTnT pueden tener un uso clínico en detectar un bajo nivel en lesión al miocardio en condiciones tales como cardiomiopatía hipertrófica y dilatada, estenosis subaortica, miocarditis, enfermedad degenerativa valvular. (Buembergner y Ricon, 2009)

Según explican (Buembergner y Ricon, 2009) el problema con la concentración de este biomarcador es su falta de especificidad por una patología determinada, ya que su aumento se observa como respuesta a numerosas enfermedades cardíacas, tal y como se indicó anteriormente.

- **Péptidos natriuréticos (BNP y NT-proBNP)**

Los péptidos natriuréticos fueron descubiertos inicialmente en humanos como biomarcadores de insuficiencia cardíaca, y su uso se ha adaptado a la práctica veterinaria (Oyama *et al*, 2008). Estos son hormonas producidas en el miocardio, cuya función es la promoción de la vasodilatación, la diuresis y la natriuresis y se sabe que actualmente, se han reconocido cinco tipos de péptidos natriuréticos (Badillo y Esteban, 2022); dentro de los cuales se incluyen en estudios cardiológicos principalmente el péptido natriurético cerebral (BNP) y el péptido natriurético tipo B (NT-proBNP). (Boswood, 2013)

Estos son secretados por los cardiomiocitos auriculares y ventriculares y posteriormente son almacenados en los gránulos de tejido auricular y en los miocitos ventriculares; como parte de sus funciones principales, se encuentra la regulación de la homeostasis cardiovascular. (Badillo y Esteban, 2022)

El BNP y su precursor NT-proBNP son sintetizados y excretados en respuesta al estrés de la pared del corazón debido a sobrecarga de presión o volumen (Boswood, 2013) o como consecuencia de eventos de hipoxia o hipertrofia miocárdica que ocasionan estrés o “elongación” de los cardiomiocitos (Badillo y Esteban, 2022); al igual que la insuficiencia cardíaca y la evaluación de la gravedad de la misma (Boswood, 2013).

Según explican (Badillo y Esteban, 2022):

Cuando se producen estos eventos, incrementa la producción de proBNP, la cual suele tener mayor estabilidad, por lo cual su duración en circulación es mayor, derivado de lo cual, dentro de este grupo son los más usados como biomarcadores en la práctica clínica veterinaria.

Por lo que estos biomarcadores proporcionan información sobre la función cardíaca y el estado hemodinámico (Oyama *et al*, 2008). Tomándose a nivel de laboratorio en caninos parámetros para NT-proBNP de <900pmol/L. (Martínez y De Lavalley, 2024); sin embargo, (Iglesias y Cerro, 2020) afirman que los valores normales para NT-proBNP en canino deben ser menores a 210 pmol/L.

Según (Iglesias y Cerro, 2020):

Este biomarcador es determinado mediante ELISA por inmunoensayo de quimioluminiscencia. La sensibilidad puede variar en dependencia del tipo de ensayo siendo para NT-proBNP en 1207pmol/L del 83% mientras que para NT-proBNP superior a 1800pmol/L (recomendado por el fabricante) esta baja hasta el 70%.

“En lo que respecta a la especificidad varia igualmente siendo para NT-proBNP en 1207pmol/L del 85% mientras que para NT-proBNP superior a 1800pmol/L (recomendado por el fabricante) esta se eleva hasta el 91%”.

- **Creatina quinasa (CK-MB)**

La Creatina Quinasa es una enzima que se encuentra dentro de las células en el músculo esquelético, músculo cardíaco y cerebro (Iglesias y Cerro, 2020). La CK-MB es una isoforma de la Creatinkinasa, es un heterodímero que consta de dos subunidades monoméricas distintas M y B. La CK-MB, se encuentra entre un 25 a 46% en el músculo cardíaco con respecto a la CK Total y de manera más reducida en el músculo esquelético (5%). (Iglesias y Cerro, 2020)

Tal y como explica (Iglesias y Cerro, 2020):

Se puede medir, tanto por su actividad sérica a través de pruebas bioquímicas, así como por concentración total (CK masa), utilizando ensayos inmunométricos. Las isoenzimas se pueden separar por electroforesis, técnicas inmunológicas y cromatografía de intercambio iónico. Los métodos las pruebas inmunológicas requieren anticuerpos monoclonales específicos de la especie.

Según (Pino, 2006) “la prueba se realiza mediante el uso de suero y éste debe ser fresco y se manejan parámetros <25 U/L”.

El problema de la CK es, que no es cardioespecífica, puede haber interferencia de lesiones musculoesqueléticas (Boswood *et al*, 2007) y sus intervalos son muy variables y dependen de la masa muscular, pero también se sospecha de la actividad física, la edad e incluso el método de determinación de creatinkinasa (Iglesias y Cerro, 2020).

En lo que respecta a la CK-MB, pese a que esta ha sido utilizada como un marcador de daño muscular cardíaco, su especificidad para enfermedades cardíacas es limitada. (Boswood *et al*, 2007)

Asimismo, existe una gran variedad de patologías que elevan la CK, a pesar de que no se produzca necrosis miocárdica; Por esta razón, la CK-MB a menudo se emplea junto con otros biomarcadores más específicos para mejorar la precisión diagnóstica. (Boswood *et al*, 2007).

Existe una diferencia significativa en la concentración de CK-MB entre el miocardio normal y enfermo, dependiendo del estado de la enfermedad, la edad del paciente, la cronicidad del estrés miocárdico y la gravedad de la duración de la isquemia. (Cubas *et al*, 2018); Por estas razones, tanto (Dyce *et al*, 2015) como (Belley-Cote *et al*, 2016) mencionan que fue necesario buscar y desarrollar marcadores más específicos para el diagnóstico de lesión de células miocárdicas.

5.4. Implicaciones Clínicas y Limitaciones

Los biomarcadores cardíacos ofrecen un enfoque innovador y preciso para el diagnóstico de enfermedades cardíacas en caninos, permitiendo una intervención temprana y una gestión clínica más efectiva. Sin embargo, es importante considerar las limitaciones asociadas con su uso. La variabilidad en la sensibilidad y especificidad entre diferentes métodos de ensayo puede influir en la interpretación de los resultados. Además, la presencia de condiciones comórbidas, como enfermedad renal o daño muscular esquelético, puede afectar la precisión diagnóstica de algunos biomarcadores, como la CK-MB.

La integración de biomarcadores con otras herramientas diagnósticas, como la ecocardiografía y el electrocardiograma, puede mejorar aún más la precisión diagnóstica y el manejo clínico de las enfermedades cardíacas en perros. Los veterinarios deben estar familiarizados con las características de cada biomarcador y considerar el contexto clínico completo al interpretar los resultados.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Tipo de investigación

El presente trabajo es un estudio es de tipo monográfico, de carácter descriptivo.

Para el desarrollo de este trabajo, se realizó una revisión exhaustiva de la literatura disponible sobre los biomarcadores de daño cardíaco en caninos. Se incluyeron tesis doctorales, monografías, artículos científicos y revisiones sistemáticas relevantes publicadas en las últimas dos décadas. La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo en bases de datos académicas reconocidas, como PubMed, ScienceDirect y Wiley Online Library, utilizando palabras clave relacionadas con cardiología veterinaria y biomarcadores cardíacos en perros.

6.2. Criterios de Inclusión y Exclusión

Los estudios incluidos en esta revisión debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión:

- Publicaciones en inglés o español.
- Estudios originales que investiguen biomarcadores cardíacos en perros.
- Investigaciones que proporcionen datos sobre la sensibilidad, especificidad y confiabilidad de los biomarcadores.

Se excluyeron los estudios que:

- No proporcionaran datos completos sobre los resultados de las pruebas.
- Estuvieran enfocados exclusivamente en especies distintas a los caninos.
- Que no estuvieran publicados en revistas científicas reconocidas o en repositorios de Universidades.

6.3. Análisis de Datos

Los datos recopilados de los estudios seleccionados se analizaron para identificar tendencias y patrones en el uso de biomarcadores cardíacos en perros. Se extrajeron datos sobre la sensibilidad, especificidad, confiabilidad, tecnología utilizada y enfermedades diagnosticadas. Los resultados se organizaron de manera sistemática para proporcionar una visión comprensiva y detallada de la utilidad de cada biomarcador.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antes de la disponibilidad de las troponinas, los marcadores de lesión de miocitos eran poco utilizados. La creatina quinasa (CK) se describía para identificar daño en músculo esquelético y miocárdico, aunque su uso era limitado debido a su baja especificidad. Con la introducción de las troponinas cardíacas, se ha logrado una medida cuantitativa más precisa del daño miocárdico, a pesar de que no determinan su etiología exacta. Estudios han demostrado que los niveles de troponinas se correlacionan con la extensión del daño miocárdico, aunque los resultados varían entre estudios.

Las troponinas cardíacas, especialmente la cTnI, son los biomarcadores más usados en la práctica veterinaria debido a su alta especificidad y sensibilidad en la detección de daño miocárdico. Su capacidad para detectar incluso pequeñas lesiones cardíacas las convierte en una herramienta indispensable en el diagnóstico y manejo de enfermedades cardíacas en caninos.

La cTnI también se destaca como el biomarcador más eficaz debido a su alta sensibilidad (97%) y especificidad (95%). A diferencia de la CK-MB, que puede elevarse por otras razones no cardíacas, la cTnI es altamente específica para el tejido cardíaco, proporcionando una medida precisa del daño miocárdico. Comparado con los péptidos natriuréticos, aunque estos últimos son útiles para evaluar el estrés de la pared cardíaca y la sobrecarga de volumen, la cTnI ofrece una detección más directa del daño miocárdico.

En lo que respecta a la CK-MB pese a que es una isoforma de la creatina quinasa que se encuentra en el músculo cardíaco, tiene una sensibilidad y especificidad más bajas en comparación a las troponinas y a los péptidos natriuréticos, por lo que es mejor al usarlo como complemento en combinación con otros biomarcadores.

VIII. CONCLUSIONES

Pese a los estudios existentes, actualmente solo dos tipos de biomarcadores han demostrado su eficacia y peso diagnóstico para las cardiopatías en perros: las troponinas y los péptidos natriuréticos, aunque estos se pueden ver modificados por algunas alteraciones extra cardíacas.

La cTnI y el NT-proBNP han demostrado ser particularmente valiosos en la identificación y estratificación de enfermedades cardíacas, ofreciendo información crítica para la toma de decisiones clínicas. La CK-MB, aunque menos específica, puede ser útil en combinación con otros biomarcadores para proporcionar una evaluación más completa del estado cardíaco.

Es esencial que los veterinarios continúen adoptando y utilizando biomarcadores cardíacos en la práctica clínica, integrando estos datos con otras modalidades diagnósticas para mejorar los resultados clínicos y el bienestar de los pacientes caninos.

Por lo que cabe destacar que todos los estudios consultados coinciden en que a pesar de la especificidad que pueden llegar a presentar los biomarcadores cardíacos, estos deben ser utilizados como pruebas complementarias a las implementadas de forma tradicional.

IX. LITERATURA CITADA

- Álvarez, I., Uribe, A., y Duarte, S. (2012). Biomarcadores de la falla cardiaca en pequeños animales. *Revista de Medicina Veterinaria*(24), 59-70. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n24/n24a06.pdf>
- Badillo, Y., y Esteban, M. (2022). *Revisión monografía de literatura de uso de Nt-ProBNP, CTnI (Troponina I), AST y CK-MB como enzimas de detección temprana de problemas cardíacos en caninos*. Córdoba, Colombia: Universidad de Córdoba. Obtenido de <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/068da20e-db70-4fb7-99f5-98d6b5ff80d6/content>
- Belley-Cote, E., . Parikh, C., Shortt, C., Coca, S., Garg, A., Eikelboom, J., . . . Whitlock, R. (julio de 2016). Association of cardiac biomarkers with acute kidney injury after cardiac surgery: A multicenter cohort study. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, CLII*(1), 245-251. Obtenido de <https://www.jtcvs.org/action/showPdf?pii=S0022-5223%2816%2900291-9>
- Boswood, A. (10 de julio de 2013). Claves sobre los biomarcadores en perros - Los principales biomarcadores. (C. Academy, Entrevistador) Obtenido de <https://www.youtube.com/watch?v=SNbXw8IzSpM>
- Boswood, A., Dukes-McEwan, J., Loureiro, J., James, R., Martin, M., Stafford-Johnson, M., . . . Attree, S. (2007). The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. *Journal of Small Animal Practice, XLIX*(1), 26-32. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1748-5827.2007.00510.x>
- Buemberguer, S., y Ricon, C. (2009). *Evaluacion del uso de la troponina i serica como indicador diagnostico o pronostico en enfermedad cardiaca en caninos*. Bogotá: Universidad de la Salle. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1072&ycontext=medicin_a_veterinaria

- Correa, R., y Galvis, S. (2014). Biomarcadores cardiacos como ayuda diagnóstica en las cardiopatías. *Spei Domus*, X(20), 42-48. Obtenido de <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/885/815>
- Cubas, E., Reyna, G., y Oblitas, F. (2018). *Enzimas cardiacas en caninos adultos (Canis lupus familiaris) con enfermedad cardiovascular y aparentemente sanos en Cajamarca, 2017*. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca. Obtenido de <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/3047/Eding%20Cubas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Dyce, K., Sack, W., y Wensing, C. (2015). *Anatomía veterinaria*. México D.F.: El Manual Moderno. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/649082628/Anatomia-Veterinaria-4ed-DYCE>
- Gavazza, A., Fruganti, A., Turinelli, V., Marchegiani, A., Spaterna, A., . . . Cerquetella, M. (2020). Canine Traditional Laboratory Tests and Cardiac Biomarkers. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 1-9. Obtenido de <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2020.00320/pdf?isPublishedV2=false>
- Horwich, T., Patel, J., MacLellan, R., y Fonarow, G. (2003). Cardiac Troponin I Is Associated With Impaired Hemodynamics, Progressive Left Ventricular Dysfunction, and Increased Mortality Rates in Advanced Heart Failure. *Circulation*, CVIII(7), 833-838. Obtenido de <https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/01.CIR.0000084543.79097.34>
- Huerta, M., Ortega, M., Cobos, M., Herrera, J., Díaz-Cruz, A., y Guinzberg, R. (2005). Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Interciencia*, XXX(12). Obtenido de https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0378-18442005001200002&script=sci_arttext

- Iglesias, R., y Cerro, L. (2020). *Actualización y utilidad de biomarcadores cardíacos utilizados en caninos*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/55bab5aa-1294-4c0b-a4a7-7a1c2ad95acc/content>
- Jaquete-de la Fuente, S., Porteiro-Vázquez, D., y Meléndez-Lazo, A. (2019). Biomarcadores cardíacos en pequeños animales. *Revista AVEPA*, XXXIX(4). Obtenido de <https://www.clinvetpeqanim.com/img/pdf/1192366768.pdf>
- Martínez, D., y De Laval, R. (2024). *Diagnóstico y manejo clínico de enfermedad valvular crónica en un canino clasificación ACVIM C: reporte de caso*. Córdoba, Colombia: Universidad de Córdoba. Obtenido de <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/b04f46f4-8f05-4ece-b247-66e9d77c4415/content>
- Oyama, M., y Sisson, D. (2004). Cardiac Troponin-I Concentration in Dogs with Cardiac Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, XVIII(6), 797-922. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02629.x>
- Oyama, M., Fox, P., y Rush, J. (2008). Clinical utility of serum N-terminal proBNP concentration for identifying congestive heart failure in dogs with mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, CCXXXII(10), 896-904. Obtenido de https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/232/10/javma.232.10.1496.xml?tab_body=pdf
- Pino, O. (2006). *Determinación de los Niveles Séricos de Enzimas Cardíacas en perros adultos con enfermedad cardiovascular y aparentemente normales*. Lima, Perú.: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/14d63f92-e744-4035-9259-6c0c30ec93ba/content>

Ridker, P. (2003). Clinical Application of C-Reactive Protein for Cardiovascular Disease Detection and Prevention. *Circulation*, CVII(3), 363-369. Obtenido de <https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/01.CIR.0000053730.47739.3C>

Wess, G., Butz, V., Mahling, M., Hartmann, K., y Simak, J. (2010). Evaluation of N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) as a screening test for dilated cardiomyopathy in doberman pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, LXXII(5), 642-649. Obtenido de https://avmajournals.avma.org/view/journals/ajvr/72/5/ajvr.72.5.642.xml?tab_body=pdf

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

DIPLOMADO EN MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN LA EVIDENCIA APLICADO A LA PRACTICA VETERINARIA

ALUMNA: Brenda Olivos Diaz

TRABAJO DOCUMENTAL

***“CHOQUE SEPTICO Y SU CORRELACION CON LA
PRUEBA DE PRODUCTOS DE DEGRADACION DE LA
FIBRINA”***

INDICE

INTRODUCCION	1
a) Hemostasia primaria.....	3
b) Emostasia secundaria.....	4
c) Fibrinolisis.....	5
d) Choque septico	5
ANTECEDENTES	6
MARCO DE REFERENCIA (HIPOTESIS U OBJETIVOS)	8
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	11
DISCUSION	12
CONCLUSIONES	13
BIBLIOGRAFIA	13

INTRODUCCION

Los productos de degradación de la fibrina y del fibrinógeno (*fibrin/fibrinogen degradation products*, FDP) se generan bajo la acción de la plasmina sobre la fibrina y el fibrinógeno. Su presencia en la sangre refleja un aumento en la actividad del sistema fibrinolítico.

El sistema hemostático, constituido por componentes celulares y proteínas plasmáticas solubles, mantiene la sangre en estado fluido. En respuesta a una lesión endotelial, las plaquetas se adhieren al subendotelio expuesto, se activan, agregan otras plaquetas circulantes y proporcionan la superficie fosfolipídica adecuada para el ensamblaje de diferentes compuestos enzimáticos de la cascada de la coagulación que generan gran cantidad de trombina en esa zona. (3)

La hemostasia es el proceso que mantiene la integridad de un sistema circulatorio cerrado y de alta presión después de un daño vascular. La hemostasia para su estudio se divide en primaria y secundaria. La hemostasia primaria se refiere a los procesos mediante los cuales se lleva a cabo el tapón plaquetario a través de la adhesión, activación, secreción y agregación plaquetaria. La hemostasia secundaria involucra la activación del sistema enzimático de coagulación, cuyo principal objetivo es la formación de trombina y fibrina para la estabilización del coágulo. Finalmente se encuentra el proceso de fibrinólisis, el cual se encarga de remover los restos del coágulo una vez reparado el daño tisular. (1)

La hemostasia normal consiste en un equilibrio entre acciones procoagulantes, que causan la producción de fibrina por efecto de las vías de la coagulación, y anticoagulantes. Las acciones anticoagulantes se ejercen a través de la fibrinólisis, que destruye la fibrina ya formada por su digestión por la plasmina, y a través de los inhibidores de la coagulación, de los cuales los principales son el sistema proteína C- proteína S, la antitrombina y el inhibidor de la vía del factor tisular. Las alteraciones sistémicas en el mecanismo hemostático dan lugar, de forma característica, a trombosis locales y segmentarias en el árbol vascular. (3)

Hemostasia primaria

Ante una lesión vascular, las plaquetas se unen al subendotelio o al tejido perivascular expuesto a la sangre. Esto desencadena una serie de mecanismos que se ordenan de la siguiente manera: a) adhesión plaquetaria, b) activación y secreción, c) agregación. (1)

Aunque el endotelio tiene múltiples proteínas adhesivas, la más importante para la adhesión plaquetaria es el colágeno. La unión de las plaquetas a las proteínas adhesivas depende de receptores específicos para cada proteína adhesiva en la membrana plaquetaria. El colágeno se une a la plaqueta mediante la GPIb/IX y el factor de von Willebrand (FvW), éste se une al colágeno y cambia su conformación, lo que permite que la GPIb/IX se le una, fijando la plaqueta al colágeno. Al activarse, las plaquetas cambian de forma y se convierten en esferas con pseudópodos. Simultáneamente, ocurre la secreción plaquetaria de sustancias activas almacenadas en los gránulos (adenosina trifosfato, factor plaquetario 4, calcio, serotonina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, tromboxano A₂, factor V, fibrinógeno).

Algunas de estas sustancias consideradas agonistas aceleran la formación del coágulo plaquetario y la reparación tisular (epinefrina, trombina, adenosina trifosfato, colágeno, tromboxano A₂). Los agonistas estimulan la unión de unas plaquetas con otras, el reclutamiento de más plaquetas y el crecimiento del coágulo se conoce como agregación plaquetaria. En este punto, el coágulo es una masa de plaquetas degranuladas, empacadas

estrechamente y rodeadas de muy poca fibrina. Para la agregación se requiere fibrinógeno y su receptor, la GPIIb/IIIa. (1)

La membrana de las plaquetas activadas también ofrece el ambiente ideal para acelerar la generación de fibrina, al proveer de fosfolípidos necesarios para la formación del coágulo definitivo, principalmente una lipoproteína denominada factor plaquetario 3. (3)

Hemostasia secundaria

La hemostasia secundaria comprende la activación del sistema de coagulación y de acuerdo con el modelo celular se divide en tres fases: iniciación, amplificación y propagación. Para que la **hemostasia secundaria inicie**, debe existir lesión endotelial que permita al plasma entrar en contacto con el factor tisular (FT), también conocido como tromboplastina o factor III, es sintetizado por diferentes tipos celulares expresado en la membrana celular. El factor VII es una proteína dependiente de vitamina K, puede ser activado por los factores IXa, Xa, XIa, trombina, plasmina o la proteasa activadora de factor VII. El complejo FT/VIIa puede activar al factor X y IX. El factor X activa al factor V y a otras proteasas no coagulantes, sin embargo, puede ser inhibido rápidamente por la vía del inhibidor del factor tisular (TFPI, por sus siglas en inglés) o por la antitrombina III (ATIII). El factor Xa que permanece en la superficie celular puede combinarse con el factor Va para producir pequeñas cantidades de trombina, lo cual es un paso importante en la activación plaquetaria y del factor VIII durante la fase de amplificación.

Las pequeñas cantidades de trombina generada en la fase de iniciación tienen diferentes efectos sobre múltiples áreas de la coagulación. La trombina es un potente activador plaquetario a través de la vía de los receptores activados por proteasas. Las plaquetas reclutadas al sitio de lesión durante esta fase, proporcionan los fosfolípidos de membrana necesarios para la fase de propagación. (1)

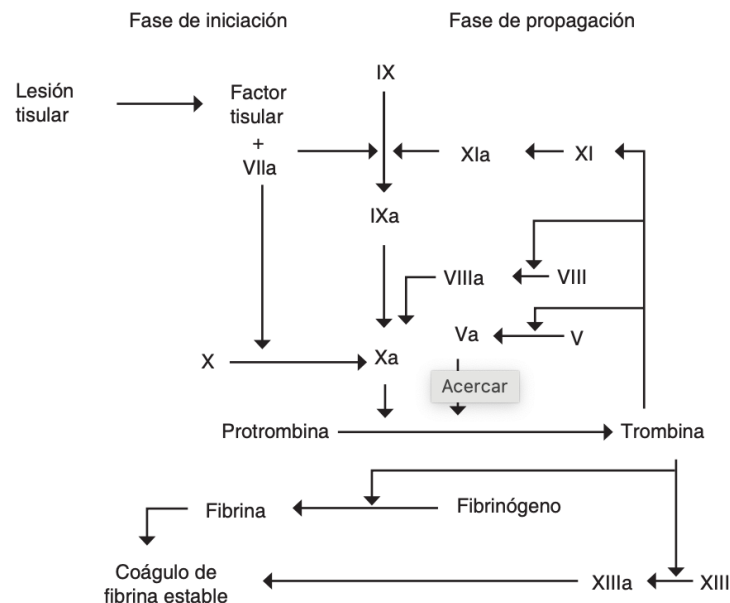


Imagen 1. Flores Rivera OI y cols. *Fisiología de la coagulación*.

La fibrina tiene un papel esencial en la hemostasia, como producto primario de la cascada de coagulación y como sustrato último en la fibrinólisis. La eficiencia de la fibrinólisis es altamente influenciada por la estructura del coágulo, las isoformas del fibrinógeno, los

polimorfismos, el grado de generación de trombina y el ambiente bioquímico en el que se desarrollan. (1)

El fibrinógeno es una proteína soluble de 340 kDa, el cual se encuentra circulando en la sangre total a concentraciones de 2 a 4 mg/dL. Consiste en dos sets de tres distintas cadenas de disulfido unidos a polipéptido ($A\alpha$, $B\beta$, $\gamma\gamma$), que son sintetizadas por tres genes separados en el cromosoma 4. El objetivo molecular principal de la trombina es el fibrinógeno, el cual es convertido en monómeros de fibrina, debido a la eliminación de la trombina en fibrinopéptidos N- terminales A y B. El monómero resultante es un disulfido unido a una proteína trinodular que sus dominios N y C terminales se convierten en los nódulos E y D respectivamente. (1)

Fibrinólisis

El sistema de la fibrinólisis es una cascada enzimática que consta de una serie de activadores e inhibidores que regulan la conversión del plasminógeno en plasmina. La generación de plasmina libre en la superficie del trombo conduce a la lisis de la fibrina, dando lugar a los productos de degradación de la fibrina. (3)

Una vez formado el coágulo, la fibrinólisis mediada por plasmina es la responsable de removerlo, tanto en etapas tardías del trauma vascular como en trombosis patológica. La trombina y la oclusión vascular inducen al endotelio a producir el activador tisular de la plasmina.

El efecto final del sistema fibrinolítico es la plasmina, el cual escinde la fibrina en productos solubles de degradación. La plasmina se produce por el precursor inactivo del plasminógeno por la acción de dos activadores: el activador tipo urocinasa de plasminógeno (uPA) y el activador de plasminógeno tipo tisular (tPA). El tPA (activador de plasminógeno) es regulado por el inhibidor del activador de plasminógeno (PAIs). El plasminógeno es encontrado en mucha mayor cantidad en plasma que el tPA. La liberación de tPA de las células endoteliales es provocada por la trombina y la oclusión venosa. El tPA y el plasminógeno se unen para envolver el polímero de fibrina. Una vez que el plasminógeno es activado y se transforma en plasmina se une a la fibrina en un sitio específico en donde existen residuos de lisina y arginina, resultando en la disolución del coágulo. (1)

La fibrinólisis es esencial para deshacer los coágulos durante el proceso de cicatrización de heridas y remover los coágulos intravasculares que se pueden manifestar como trombosis. La acumulación intravascular de fibrina también está asociada con el desarrollo de aterosclerosis. Un sistema antifibrinolítico efectivo que tiende a proteger contra el proceso crónico de la enfermedad aterosclerótica vascular. (3)

Choque séptico.

La sepsis y su complicación mas severa, el choque séptico constituyen causas fundamentales de una morbilidad y mortalidad elevadas, caracterizándose estos procesos patológicos por trastornos fisiológicos e inmunológicos severos en el organismo de los mamíferos, denominándosele síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) al conjunto de los numerosos síntomas y signos clínicos observados en el desarrollo de esta enfermedad grave en que la infección y la inflamación que afectan a órganos y diversos tejidos, desempeñan un papel protagónico. (5)

La enfermedad y sus secuelas se manifiestan como estadíos progresivos de un mismo proceso, en el cual la respuesta sistémica a la infección puede generar una reacción inflamatoria generalizada en órganos distantes a la lesión inicial y eventualmente inducir disfunción multiorgánica. (4)

La sepsis es la enfermedad más comúnmente vinculada con la coagulación intravascular diseminada porque existe gran relación entre la coagulación y la actividad inflamatoria.

Cerca de 20 a 40% de los pacientes con sepsis padecen coagulación intravascular diseminada, generando altas tasas de mortalidad, que varía según el grado de la severidad de la sepsis; sin embargo, puede alcanzar cifras, incluso, de 28.6%. (7)

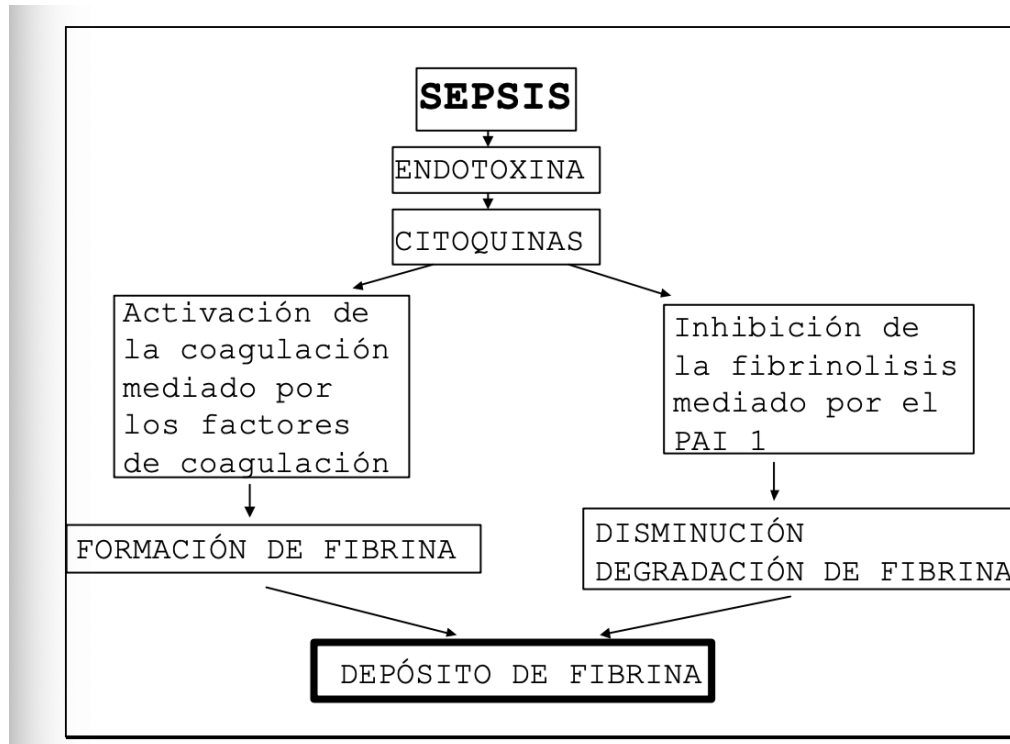


Imagen 2. Resumen sepsis.

ANTECEDENTES

Hace ya 30 años que se demostró que la activación de la coagulación se correlacionaba positivamente con el shock en los pacientes con sepsis, y que esta activación era independiente del agente infeccioso, ya que los gérmenes gramnegativos, grampositivos y los parásitos eran capaces de desencadenar esta respuesta. Sin embargo durante todos estos años no se le dio a la relación entre coagulación e inflamación, en el contexto de la sepsis, la importancia que parece tener. Los conocimientos aportados por la biología molecular han mejorado la comprensión de esta relación y numerosos estudios clínicos se han publicado sobre el tema. En los pacientes sépticos la coagulación intravascular diseminada (CID) aparece frecuentemente, pudiendo complicar la ya compleja situación clínica y contribuir a alta mortalidad. (4)

Por otro lado podemos definir la inflamación como la respuesta no específica inicial ante la lesión tisular producida por un estímulo mecánico, químico o microbiano. Es una respuesta rápida, humoral y celular, muy amplificada pero controlada, en la cual la cascada de citocinas, el complemento, la coagulación y la cascada fibrinolítica son disparadas en conjunto por la activación de los macrófagos y las células endoteliales por elementos bacterianos. Esta respuesta local es considerada benigna y adecuada en tanto el proceso inflamatorio sea correctamente regulado. La reacción tiene componentes proinflamatorios

y antiinflamatorios, y a veces estos últimos son iguales o mayores que los proinflamatorios. Se producen cuatro eventos fundamentales en el desarrollo del proceso inflamatorio:

- a. Vasodilatación
- b. Incremento de la permeabilidad microvascular
- c. Activación y adhesión celulares
- d. **Coagulación.**

La coagulación es un proceso fisiológico en el que participan las plaquetas, los leucocitos, el endotelio vascular, el sistema de coagulación, el sistema de anticoagulación y el sistema fibrinolítico, cuyo objetivo es evitar la pérdida de sangre ante la lesión del endotelio vascular. La coagulación puede ser activada durante los estadios inflamatorios, las enfermedades malignas o las infecciones; esa activación está mediada por diversas moléculas, como el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleucina 1 (IL-1), la IL-6, la IL-8, entre otros. En la mayoría de los casos no hay complicaciones, debido a que es un proceso fisiológico y ocurre cotidianamente. (7)

Recientemente se ha demostrado que el sistema de coagulación es activado por productos bacterianos (por ejemplo, endotoxina o LPS) y los mediadores de la inflamación. Los cambios inducidos por la endotoxina cambian las propiedades del endotelio vascular desde el estado profibrinolítico y anticoagulante normal a un estado antifibrinolítico y procoagulante. La activación del sistema de coagulación y la coagulopatía microvascular son parte de la respuesta del huésped a la infección, la estrecha relación entre la coagulación microvascular, la sepsis y la mortalidad no ha sido totalmente apreciada. (4) Los pacientes con sepsis severa presentan frecuentemente trombocitopenia, niveles elevados de producto de degradación de fibrina o D-dímero, que son marcadores de coagulopatía microvascular. Las citoquinas proinflamatorias (TNF α , IL1, IL6, IL-8) incrementan la expresión del factor tisular, principal activador de coagulación en la sepsis, sobre la superficie de las células endoteliales y monocitos e inhiben la expresión en la superficie de las células endoteliales del receptor de la proteína C, la trombomodulina, bloqueando de esta manera la activación de la vía anticoagulante de la proteína C. (4)

Estudios in vitro también han demostrado que estas citoquinas reducen la expresión del activador tisular del plasminógeno (t-PA) y producen una intensa liberación del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). Los neutrófilos activados en el curso de la respuesta inflamatoria producen y liberan la enzima proteolítica elastasa que destruye a la antitrombin III (ATIII) y trombomodulina, disminuyendo de esa manera la actividad de los anticoagulantes naturales. Todas estas acciones contribuyen a la aparición del estado procoagulante característico de la respuesta inflamatoria sistémica, que lleva al consumo de los factores de coagulación y de los anticoagulantes naturales, y a una ruptura del balance normal entre la coagulación y la fibrinólisis. La inflamación activa la coagulación, pero la activación de la cascada de la coagulación promueve la aceleración de la respuesta inflamatoria aguda. (6)

MARCO DE REFERENCIA

Es importante establecer los grados de complicaciones en afecciones sistémicas, conocer los posibles caminos y desenlaces clínicos que se pueden presentar en el día a día. El choque séptico, por ejemplo, es un tema de importancia por la alta mortalidad al no ser tratado oportunamente. En el presente trabajo nos enfocaremos en la correlación que hay en relación con problemas relacionados con mecanismos derivados de la fibrina y fibrinógeno, importancia de la interacción de los mediadores de la inflamación en el proceso de fibrinolisis.

En los estudios que se han realizado a nivel sistémico se ha evidenciado que aunque las alteraciones de la cascada de coagulación son desencadenadas por los microorganismos y sus productos, las citoquinas que son producidas y liberadas por el huésped en respuesta a dichos agentes y juegan un papel muy importante en el desarrollo de estas alteraciones. (2)

La capa de células mesoteliales serían la primera barrera que anatómicamente entraría en contacto con el agente agresor, pero además fisiopatológicamente sería capaz de desencadenar toda la respuesta inflamatoria posterior. Así tras la agresión bacteriana estas células mesoteliales aumentan la producción y liberación de citoquinas proinflamatorias con una importante acción quimiotáctica, ocasionando cambios en la permeabilidad celular, y permiten el paso de células inflamatorias al espacio pleural que perpetúa y amplificaría la respuesta de inflamación.

En ocasiones, la activación de los mecanismos antes mencionados puede llegar a ser patológica con características sistémicas y se denomina coagulación intravascular diseminada, que es un síndrome caracterizado por la activación de la cascada de coagulación y la fibrinólisis, que ocasiona la formación de trombos y la embolización de los mismos en el lecho microvascular, este proceso puede originar amputaciones, gangrena e incluso la muerte por el daño de la perfusión de tejidos y órganos vitales, de ahí la importancia de un diagnóstico y tratamiento oportunos. (3)

La coagulación intravascular diseminada es desencadenada por complicaciones, como sepsis, quemaduras, traumatismos graves, cáncer, malignidades hematológicas, medicamentos como rifampicina, rituximab y oxalapatin, quimioterapia, entre otras, por tanto, el tratamiento oportuno de esas enfermedades o la suspensión de los fármacos implicados son la piedra angular del tratamiento de la coagulación intravascular diseminada. Además de las manifestaciones trombóticas, debido a la fuerte estimulación de la actividad fibrinolítica, pueden aparecer eventos clínicos hemorrágicos, que clínicamente se distinguen por sangrado que puede llevar a la pérdida de pequeños a grandes volúmenes de sangre, esta última situación puede generar un importante daño hemodinámico en los pacientes. (7)

Es importante recordar que el sistema de fibrinolisis es responsable del balance de la fibrina, y está regulado por un preciso sistema de activadores e inhibidores. Los activadores del plasminógeno regularían el paso de plasminógeno a plasmina que es una proteasa activa que lisaría la fibrina, mientras que los inhibidores modularían la actividad de los activadores bloqueando por tanto la actividad fibrinolítica. (2)

En este trabajo se hara referencia a la revision de dos estudios realizados; uno para observar la intervencion negativa o positiva de los mediadores de la inflamacion en la respuesta del mecanismo de fibrinolisis y productos de degradacion de fibrinogeno- fibrina (8). Y el segundo para establecer correlacion entre CID y productos de degradacion de la fibrina-fibrinogeno. (9)

Ya que los mecanismos que intervienen en un choque septico y formacion de fibrina se relacionan en cierto punto, y conocer un poo sobre ellos nos ayudarian a comprender la fisiopatologia mejor, hemos propuesto los siguientes **objetivos**:

- a. Analizar la relacion existente entre mecanismos de inflmacion aguda y mecanismos asociados a fibrina y fibrinogeno
- b. Establecer la funcion de la prueba de productos de degradacion de la fibrina.
- c. Conocer la relacion que existe entre la actividad del sistema fibrinolitico y los productos de degradacion de la fibrina.

Prueba	Valores normales
Recuento de plaquetas	150 000-450 000/mL
Tiempo de sangrado (Duke)	3-7 minutos
Tiempo de coagulación (Lee-White)	5-10 minutos
Tiempo de protrombina	10-14 segundos >60%
INR	0.8-1.2
Tiempo de tromboplastina parcial activado	25-45 segundos
Tiempo de trombina	9-35 segundos
Fibrinógeno	200-400mg/dL
Productos de degradación de fibrina	0-11 (<10 mg/mL)
Dímero D	<500 ng/mL

Imagen 3. Valores normales de las pruebas de coagulcion. (7)

MATERIAL Y METODOS

En estudios experimentales realizados en sujetos sanos, enfermos de cáncer o primates, evalúan individualmente los efectos de las citoquinas proinflamatorias sobre el sistema de fibrinólisis al administrar cada citoquina por separado o bien anticuerpos monoclonales que bloquean específicamente cada una de estas; por ejemplo el TNF- α es la primera citoquina que se detecta en el suero de los pacientes con sepsis, al ser la primera citoquina detectada y dado que varios estudios in vitro anteriormente han demostrado actividad procoagulante a expensas tanto de inhibir mecanismos anticoagulantes, principalmente la proteína C y S, como de aumentar la síntesis de PAI 1 por células endoteliales, también se han realizado estudios que evalúan la acción del TNF- α sobre la cascada de coagulación. (2)

El aumento en la producción de fibrina, la activación del sistema fibrinolítico y la conversión del fibrinógeno a fibrina son procesos implicados en la fisiopatología de la coagulación intravascular diseminada y pueden ser detectados mediante pruebas de laboratorio, incluso para establecer el diagnóstico. Desafortunadamente, existen diversas limitaciones debido a que no es costo-efectivo, no genera un beneficio tangible y no existen pruebas específicas de laboratorio con esa finalidad. (6)

Los criterios para el diagnóstico de la coagulación intravascular diseminada se basan en pruebas de coagulación, tiempo de trombina, cuantificación de productos de degradación de la fibrina y recuento plaquetario. En estas pruebas de laboratorio se puede obtener disminución de los factores de la coagulación y las plaquetas, como en la coagulación intravascular diseminada aguda o, por el contrario, elevados o normales, como es el caso de la coagulación intravascular diseminada crónica donde el hígado y la médula ósea compensan su consumo. (7)

El fibrinógeno, última proteína de la cascada de la coagulación, puede medirse por métodos químicos o inmunitarios, se encuentra en concentraciones que van de 200 a 400 mg/dL. En condiciones de estrés actúa como un reactante de fase aguda y puede elevarse hasta 800 mg/dL. Sus fragmentos se pueden medir directamente por su aglutinación en látex, aunque esta técnica es cualitativa (positiva o negativa) es posible calcular en forma semicuantitativa los fragmentos de fibrina de manera que en un paciente con coagulación intravascular diseminada la aglutinación 3-4+ equivalente a $>10-40 \mu\text{g/mL}$, apoya el diagnóstico; sin embargo, si los fragmentos son tan pequeños como los D y E puede resultar un falso negativo. Por otra parte, los pacientes con hepatopatía pueden tener un resultado falso positivo. La medición de dímeros D, que se realiza mediante un anticuerpo monoclonal específico contra las regiones D de la fibrina fragmentada es una prueba más específica y sensible en pacientes con coagulación intravascular diseminada con valores $>500 \text{ ng/mL}$; a mayor nivel mayor grado de afección. (8)

Otro estudio en relación con la coagulación intravascular diseminada que como ya sabemos en un trastorno adquirido que se presenta frecuentemente en múltiples procesos patológicos. El objetivo del estudio fue conocer la sensibilidad, especificidad y el valor pronóstico de la prueba del dímero D, en el diagnóstico de CID. Se estudiaron 60 pacientes. La prueba del dímero D, tuvo una media de $3.3 \text{ mg} + 0.60$ con una sensibilidad de 89.18%, una especificidad 84%, un valor pronóstico positivo de 89.18%, un valor pronóstico negativo de 84% y una eficiencia de 87%. El factor V tuvo una media de $56.7\% + 8.15$, con una sensibilidad 88.8%, una especificidad de 87.5%, el valor pronóstico positivo fue de 91.4%; el valor pronóstico negativo fue de 84% y la eficiencia fue 88.3%. Se concluye que la prueba

del dímero D es útil, aunado al cuadro clínico; debido a la rapidez con que se obtiene el resultado de esta prueba. (9)

La determinación se realiza en el suero con un método semicuantitativo (aglutinación de partículas de látex) y métodos cuantitativos inmunoquímicos. Algunos métodos no permiten diferenciar entre los FDP procedentes de fibrina y los del fibrinógeno.

Un aumento simultáneo de las concentraciones de FDP y de dímero D se produce en la hiperfibrinólisis secundaria, precedida por la formación de trombos, p. ej. en la trombosis venosa y la CID. En cambio, un aumento de la concentración de productos de degradación del fibrinógeno con una concentración normal del dímero D indica hiperfibrinogenolisis primaria. Esta se presenta durante las intervenciones quirúrgicas, en circulación extracorpórea y en caso de liberación de los activadores del plasminógeno por órganos isquémicos o lesionados, con más frecuencia el páncreas, los pulmones, la próstata y el útero.

RESULTADOS

Caso 1. El daño endotelial ocasiona la liberación de fibras de colágeno, lo que lleva a un estado protrombótico que activa la cascada de coagulación, altera la reactividad de las plaquetas y genera vasoconstricción. Asimismo, ocurre activación del endotelio, es decir, aumenta su permeabilidad y la interacción con leucocitos dando lugar a la diapédesis, quimiotaxis y producción de citocinas

Caso 2. El diagnóstico de CID siempre ha sido un problema para el clínico, ya que en muchas ocasiones se sobrediagnostica y por ende se establece una terapéutica inadecuada. En el presente informe se encontró que la mayor frecuencia de CID ocurre en la etapa de la lactancia. Resultados similares han sido informados por otros autores. En esta serie se tuvo una frecuencia mayor en el sexo masculino (73.5%) respecto al femenino (26.4%). Las causas que desencadenaron CID en los pacientes fueron: septicemia, gastroenteritis infecciosa, bronconeumonía, traumatismo craneoencefálico, choque hipovolémico y/o séptico, quemaduras extensas, leucemias, insuficiencia renal aguda, lo cual también ha sido observado por diversos autores. Respecto a las pruebas de coagulación, la determinación de plaquetas tuvo una sensibilidad de 88.8% y una especificidad de 66.6%, en el diagnóstico de CID, lo que coincide con lo obtenido por Carr;24 sin embargo, es bien sabido que en la sepsis y en las enfermedades hepáticas hay trombocitopenia; por lo que este resultado, como prueba aislada, debe tomarse con precaución. Con relación al fibrinógeno, la sensibilidad fue de 55.8% y la especificidad de 55%; estas cifras son menores a las informadas por otros autores. En algunos estudios se menciona que el fibrinógeno se puede encontrar elevado en procesos infecciosos o en estados iniciales de CID, por otra parte también existen condiciones en las que el fibrinógeno se encuentra bajo como en la misma sepsis y en alteraciones hepáticas; por lo que la determinación no es específica de CID. El factor V tuvo una sensibilidad de 88.8% y una especificidad de 87.5%. Está descrito en diversas publicaciones que cuando la CID se instala existe consumo de factores de la coagulación, principalmente el II, V, VIII, por lo que esta prueba de consumo se considera de mejor valor pronóstico. La prueba del dímero D, la cual fue el motivo de este trabajo, fue positiva (por arriba de 0.5 mg/L) en el 91% de los

pacientes con CID y sólo se encontró positiva en 5.8% de los pacientes que no tuvieron CID. La sensibilidad de esta prueba fue del 89.8% con una especificidad del 84%. Esta prueba es específica para fibrinólisis, aunque no distingue la lisis del coágulo patológico; por eso se puede encontrar positiva en las trombosis venosas, en enfermedades arteriales, en neoplasias, en pacientes posoperados y en enfermedades inflamatorias. Por esta razón se considera que esta prueba no es específica por sí sola.

Se menciona que el fibrinógeno se puede encontrar elevado en procesos infecciosos o en estados iniciales de CID, por otra parte también existen condiciones en las que el fibrinógeno se encuentra bajo, como en la misma sepsis y en alteraciones hepáticas, por lo que la determinación no es específica de CID, y es muy importante realizar historias clínicas correcta. (9)

DISCUSION

Estudios realizados en los últimos años han evidenciado que existe una inhibición de la fibrinólisis asociado a elevadas concentraciones de los inhibidores de la fibrinólisis en los derrames de etiología infecciosa o inflamatoria. Esta elevación de los inhibidores del plasminógeno en derrames infecciosos justifica el bloqueo en la degradación de la fibrina que se produce en dichos derrames. (2) De acuerdo con los resultados reportados por el autor (*Aleman Llanso, Carmen. 2000*) la correlación entre problemas de sepsis y productos de degradación de fibrina está relacionada de manera positiva ya que se ve afectada por la presencia de mediadores de la inflamación aguda- infecciosa. Por otro lado, en el segundo estudio consultado en este trabajo (*González, I. H., Velázquez, J. L. P., & Pintos, R. V. 1999*) nos refiere que las causas que desencadenaron CID en los pacientes fueron: septicemia, gastroenteritis infecciosa, bronconeumonía, traumatismo craneoencefálico, choque hipovolémico y/o séptico, quemaduras extensas, leucemias, insuficiencia renal aguda, lo cual también ha sido observado por diversos autores. La correlación entre CID y prueba de productos de degradación de la fibrina- fibrinógeno es real, aunque aun no se establece el porcentaje real de la correlación, ya que son diversos factores los que intervienen en dichos mecanismos. Uno muy importante es todos los componentes del proceso inflamatorio asociado a cada uno de los procesos fisiopatológicos que se llevan a cabo en pacientes con problemas sistémicos, como lo es choque séptico.

Mientras que (*Álvarez-Hernández, L. F., & Herrera-Almanza, L. 2018*). No habla sobre el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, que es una de las principales causas de la activación sistémica de la coagulación, donde 50 a 75% de los pacientes politraumatizados con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica pueden padecer coagulación intravascular diseminada. El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica puede ser causado por episodios traumáticos en los que existe destrucción tisular masiva, que genera la liberación del factor tisular, también puede ser causado por las infecciones, como ocurre en la sepsis bacteriana responsable de 7% de muertes y cerca de 45% de muertes en unidades de cuidados intensivos de países en vía de desarrollo, mientras que en los neonatos con sepsis cerca de 33% padece coagulación intravascular diseminada y muere. (7)

CONCLUSIONES

El choque séptico tiene una correlación positiva, en cuanto a la presencia de problemas en el sistema fibrinolítico, para presentarse complicaciones de tipo clínicas en el paciente. Aunque se desconoce el porcentaje de correlación, por falta de estudios recientes.

El mecanismo de inflamación aguda séptica se relaciona con la presencia de citocinas que alteran en cierto punto el mecanismo de coagulación. Por lo que es cierto que ante una sepsis, vamos a tener alterado el proceso de coagulación.

BIBLIOGRAFIA

1. Flores-Rivera OI, Ramírez-Morales K, Meza-Márquez JM, et al. Fisiología de la coagulación. *Rev Mex Anest*. 2014;37(Suppl: 2):382-386.
2. Aleman Llanso, Carmen (2000). Influencia de los mediadores de la inflamacion sobre la degradacion de la fibrina en los derrames pleurales infecciosos. Universidad Autonoma de Barcelona. Dpto de Medicina. Tesis doctoral. <https://ddd.uab.cat/record/37382>> [Consulta: 6 agos
3. G. Espinoza, JC. Reverter. (2001). Coagulación y fibrinólisis plasmática. Estados de hipercoagulabilidad. Elsevier, vol. 38. (Núm. 4), 156-166.
4. Briceño, I. (2005). Sepsis: Definiciones y aspectos fisiopatológicos. *Medicrit*, 2(8), 164-178.
5. Álvarez, R. G., Rodríguez, Z. Z., & González, Y. A. (2009). Citocinas anti-inflamatorias y sus acciones y efectos en la sepsis y el choque séptico. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10(8).
6. González R, Zamora Z, Alonso Y. Citocinas pro-inflamatorias y sus acciones y efectos en la sepsis y el choque séptico. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2007; 26: 1-9. *
7. Álvarez-Hernández, L. F., & Herrera-Almanza, L. (2018). Coagulación intravascular diseminada: aspectos relevantes para su diagnóstico. *Medicina interna de México*, 34(5), 735-745.
8. Lopez, N. S. (2016). Pruebas de coagulacion. Servicio de hematología, Instituto Nacional de Pediatría. *Acta pediatrica*. Scielo.Vol. 37 (Num 4). *Versión On-line* ISSN 2395-8235*versión impresa* ISSN 0186-2391
9. González, I. H., Velázquez, J. L. P., & Pintos, R. V. (1999). Sensibilidad y especificidad del dímero D2 de la fibrina, en el diagnóstico de la coagulación intravascular diseminada. *Revista Mexicana de Pediatría*, 66(4), 146-149.
10. Weir Medina, J. E. (1985). Niveles séricos de los productos de degradación de fibrinógeno-febrina en recién nacidos pretérmino a término normales. *Rev. Acad. Med. Zulia*, 707-27.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
DIPLOMADO



**MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN LA EVIDENCIA (MLBE) APLICADA A LA
PRÁCTICA VETERINARIA**

TRABAJO FINAL:

ELECTROFORESIS DE PROTEINAS URINARIAS EN CANINOS

Alumno: pBQD. Danid Eliut Flores Delgado

Profesores: Dr. Guillermo Valdivia Anda

MVZ Graciela Castañeda Aceves

Fecha: 7 de agosto de 2024

Índice

- I. INTRODUCCIÓN**
- II. ANTECEDENTES**
- III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**
- IV. HIPÓTESIS**
- V. OBJETIVOS**
 - 1. Objetivo general
 - 2. Objetivos específicos
- VI. MATERIAL / MÉTODOS**
 - 1. Tipo de estudio
 - 2. Metodología
- VII. MARCO TEÓRICO**
 - 1. Riñón
 - 1.1. Anatomía y fisiología
 - 1.2. Nefrona: unidad funcional
 - 1.3. Fisiología de la filtración
 - 2. Enfermedad renal
 - 2.1. Etiología de la enfermedad renal
 - 2.2. Fisiopatología de la enfermedad renal
 - 2.3. Glomerulopatía en enfermedad renal
 - 2.3.1. Glomerulonefritis
 - 3. Proteinuria
 - 3.1. Proteinuria en perros sanos
 - 3.2. Fisiopatología de la proteinuria
 - 4. Métodos para medición de proteínas en orina
 - 4.1. Purificación y análisis de proteínas
 - 5. Electroforesis
 - 5.1. Tipos de electroforesis.
 - 5.1.1. Electroforesis zonal
 - 5.1.1.1. Acetato de celulosa
 - 5.1.1.2. Gel de agarosa
 - 5.1.1.3. Gel de poliacrilamida
 - 5.1.1.4. SDS-PAGE
 - 5.1.1.5. Etapas generales de la electroforesis zonal.
 - 5.1.2. Electroforesis capilar (automatizada).
 - 6. Electroforesis de proteínas urinarias en caninos
 - 6.1. Metodología para realizar una electroforesis capilar (automatizada)
 - 6.1.1. Procedimiento para toma y procesado de la muestra de orina
 - 6.1.2. Equipo automatizado de electroforesis capilar urinaria
 - 7. Proteinograma
- VIII. RESULTADOS**
- IX. DISCUSIÓN**
- X. CONCLUSIONES**
- XI. BIBLIOGRAFÍA**

I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo de revisión bibliográfica se centra en la búsqueda de información relacionada a la utilización de la electroforesis como método analítico de proteínas en orina de caninos, así como el describir la metodología empleada para desarrollar la técnica y una comparación entre los diferentes tipos de electroforesis, con el fin de identificar la utilidad de esta técnica en el diagnóstico de enfermedades renales de caninos.

El perro es un importante modelo biológico y por su fin zootécnico debe cuidarse su salud. La enfermedad renal en perros es de gran relevancia, ya que dicho padecimiento representa la segunda causa de muerte no accidental en el mundo y suele detectarse hasta que ya se ha destruido entre el 70 y 80% de la función del riñón. En este momento los veterinarios detectan la enfermedad mediante las pruebas existentes. Por lo tanto, la detección temprana es la clave para la introducción de regímenes de dieta o terapéuticos que podrían ralentizar de forma considerable la progresión de la enfermedad y añadir mayor esperanza de vida al animal. (Fuentes, 2011).

La electroforesis es una técnica de laboratorio que se basa en la separación de biomoléculas según su carga, peso molecular y estructura, cuando se somete a un campo eléctrico, provocándose así una migración del cátodo o ánodo. La primera vez que se empleó la electroforesis como medio de análisis fue en 1937 por Tiselius. Con el paso de los años han ido surgiendo otros tipos de electroforesis, perfeccionándose cada vez más la técnica. (Wsol, 2020).

La técnica de la electroforesis se clasifica en la electroforesis de zona y la electroforesis capilar. Estas técnicas se diferencian en que la electroforesis capilar no necesita un soporte líquido, sino que utiliza capilares de sílice fundido para la separación de las biomoléculas. En cambio, la electroforesis de zona sí que usa el soporte sólido en forma de gel poroso que suele ser un polímero. Dentro de la electroforesis en zona existen diferentes tipos de electroforesis como la electroforesis en papel, electroforesis en acetato de celulosa, electroforesis en gel de agarosa, en gel de poliacrilamida (PAGE), electroforesis en sodio dodecilsulfato-gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) y la electroforesis de alta resolución (Wsol, 2020).

A lo largo del tiempo la electroforesis más usada fue la electroforesis en gel de agarosa, pero esta ha sido poco a poco reemplazada por la electroforesis capilar. La electroforesis capilar se basa en la separación de moléculas según la velocidad de migración bajo la acción de un campo eléctrico de compuestos iónicos, sin necesidad de elementos de

soporte. La separación se realiza a través de un capilar de sílice fundido de pequeño diámetro. (Wsol, 2020)

Este tipo de técnica se ha usado en medicina humana y veterinaria para la detección de enfermedades inflamatorias, infecciosas, inmunomediadas y neoplásicas debido a la acumulación de metabolitos en suero y orina detectados mediante electroforesis capilar. (Chávez,2018)

El resultado de la electroforesis capilar urinaria es la obtención de una curva electroforética de la muestra de orina, llamada proteinograma. Este proteinograma se divide en cinco fracciones que se corresponden a las de albúmina, alfa1-globulina, alfa2-globulina, beta-globulinas y gammaglobulina. Según los parámetros obtenidos y la comparativa con los rangos de referencia ya establecidos, esta técnica puede servir para identificar patologías de origen infeccioso, tumoral o inflamatorio (Adana, 2019).

II. ANTECEDENTES

En medicina veterinaria, es difícil diagnosticar la enfermedad renal en fase temprana ya que los signos clínicos son mínimos (solo leve incapacidad de concentrar la orina) y los mecanismos de compensación enmascaran la lesión. No obstante, es de vital importancia identificar y corregir las causas de lesión renal para prevenir mayor daño renal y progresión de la misma mediante la caracterización de las proteínas en orina. (Wsol, 2020).

En medicina veterinaria, el papel que la electroforesis desempeña en la separación e identificación de las proteínas urinarias en el perro suscitó interés desde la década de los sesenta al caracterizarse como una técnica fundamental que permite la separación de las proteínas en función de su peso molecular. Con los datos que proporciona, la proteinuria puede ser clasificada en prerrenal, renal o postrenal, con la determinación de la etiología de la enfermedad. Además, en función del peso molecular de las proteínas detectadas en la orina, se puede ayudar a localizar la lesión renal, clasificándola en glomerular, tubular o de tipo mixto. Por otro lado, en la orina de los perros aparentemente sanos pueden aparecer proteínas que, por los medios convencionales de detección, pasan inadvertidas y que mediante electroforesis pueden evidenciarse, lo que permite el establecimiento de un diagnóstico con prontitud. (Chávez,2018).

La electroforesis constituye una parte importante del procedimiento rutinario del análisis de proteínas, ya que es un método analítico–cuantitativo, en el que se separan biomoléculas, en dependencia entre otros factores de su carga y bajo la acción de un campo eléctrico, fue empleado por primera vez por Tiselius en el año 1937. En 1959 Raymond y Weintraub

fueron los primeros en usar como soporte un gel de poliacrilamida posteriormente el método fue perfeccionado por varios investigadores como Davis y Ornstein, lográndose un aumento de la resolución. En 1970 se introduce en esta técnica el dodecil-sulfato de sodio (SDS), y ya en 1972 se emplean agentes reductores y SDS en la determinación del peso molecular de proteínas en lo que se denominó electroforesis en geles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE) (Diez,2013).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Es posible analizar mediante la técnica de electroforesis, las proteínas que más comúnmente se podrían encontrar en caninos con proteinuria?

IV. HIPÓTESIS

Mediante la técnica de electroforesis, es posible identificar y analizar las proteínas más comunes presentes en la orina de caninos con proteinuria, permitiendo la diferenciación de patrones proteicos específicos asociados a esta condición.

V. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión bibliográfica sobre la utilización de la electroforesis de proteínas urinarias en el diagnostico de enfermedades renales en perros.

7.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la metodología para realizar el análisis de proteínas urinarias por medio de los diferentes tipos de electroforesis.
- Interpretar y Analizar los diferentes tipos de proteinogramas obtenidos luego de una electroforesis de proteínas urinarias, para su utilización en el diagnostico de enfermedades renales.

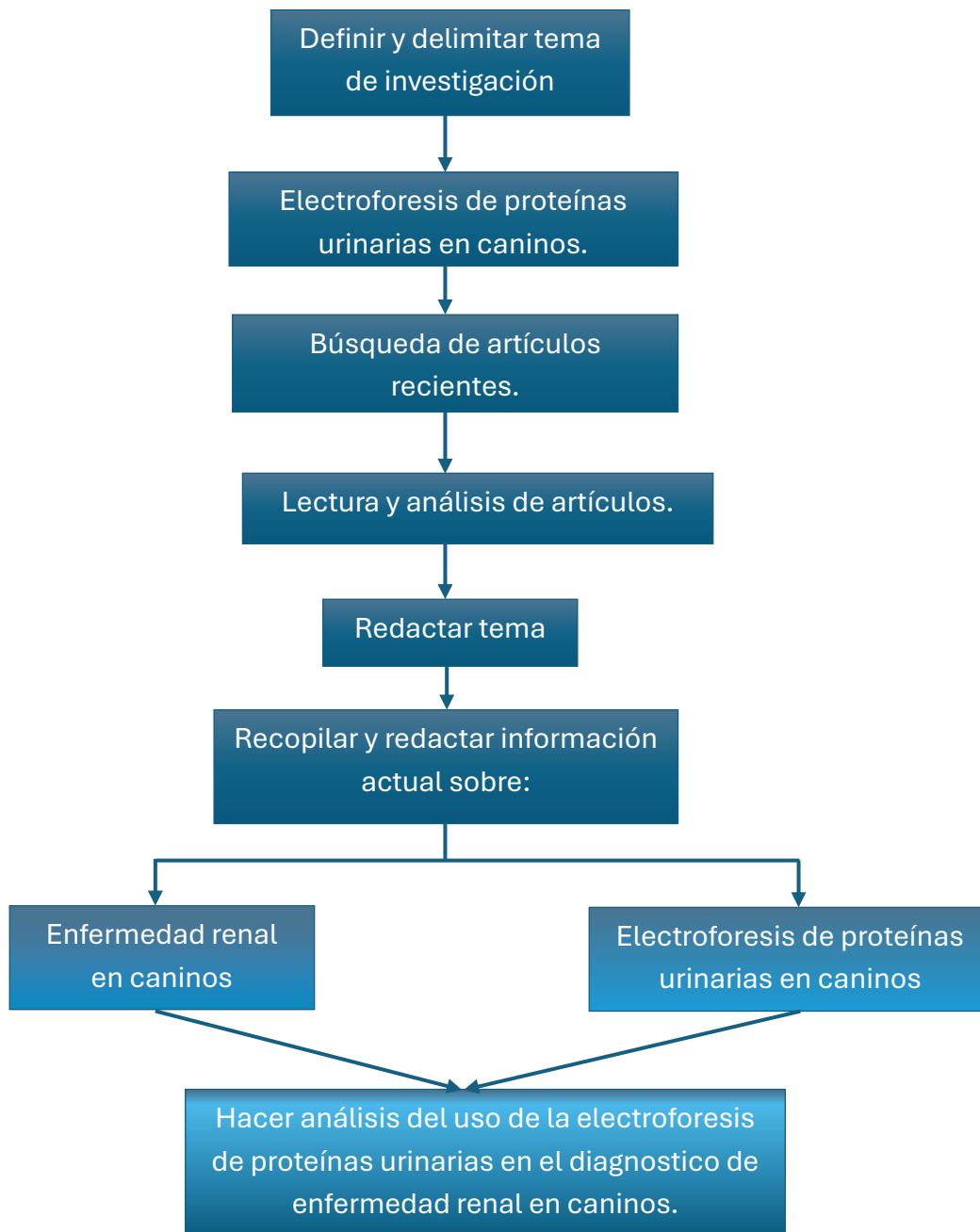
VI. MATERIAL Y MÉTODO

6.1. Diseño del estudio

Estudio descriptivo, retrospectivo, documental.

6.2 Metodología

La metodología de investigación consiste en hacer una búsqueda bibliográfica exhaustiva sobre la utilización de la técnica de electroforesis de proteínas urinarias en el diagnóstico de enfermedades renales en caninos, para así recuperar, recopilar y redactar la información, donde se evalué y seleccioné de acuerdo a los objetivos planteados.



VII. MARCO TEÓRICO

1 RIÑÓN

1.1. Anatomía y fisiología del riñón

Los riñones reciben alrededor del 25% del gasto cardíaco filtran el plasma y los constituyentes plasmáticos de la sangre , y de este modo reabsorben de manera selectiva el agua y las sustancias útiles del filtrado y excreta finalmente el exceso y los productos de desecho del plasma. Además producen y liberan hormonas que juegan un producto vital en el control de la presión sanguínea sistémica y en la producción de glóbulos rojos, manteniendo así la homeostasis del cuerpo (Fuentes, 2011).

1.2. Nefrona: unidad funcional

La unidad anatómica y funcional del riñón es la nefrona. Se estima que en cada riñón en el perro existen un total de 400 000 nefronas y 1 000 000 en el hombre. La nefrona está compuesta del corpúsculo renal y del túbulo contorneado proximal, asa de Henle y túbulo contorneado distal, continuado por el túbulo colector. (Chávez,2018).

1.3. Fisiología de la filtración

Una de las principales funciones del glomérulo es permitir la filtración de moléculas pequeñas, como el sodio, urea y agua, mientras restringe el paso de moléculas grandes. Esto permite al riñón mantener la homeostasis por la excreción de desechos nitrogenados derivados de la dieta, mientras se preservan las moléculas proteicas esenciales mayores del plasma. El paso potencial de una sustancia a través de la barrera de filtración glomerular (del plasma al ultrafiltrado) en individuos sanos depende de: a) el tamaño molecular: cerca del 100% de las moléculas con radio <2.5 nm la atravesarán. Casi ninguna molécula con radio >3.4 nm la pasará; b) La carga eléctrica: sustancias cargadas positivamente y eléctricamente neutras pasan la barrera mejor que las sustancias con cargas negativas debido a que la membrana basal contiene moléculas cargadas negativamente, moléculas más cationicas son más permeables, y c) la presión capilar(Fuentes, 2011).

El paso de moléculas a través del filtro glomerular depende, por tanto, de la concentración plasmática, tamaño molecular, estructura y carga eléctrica. El tamaño de la proteína parece ser el factor más determinante a la hora de atravesar la membrana basal del glomérulo. En general, proteínas con un peso molecular mayor o igual a 70 kDa y un diámetro superior a 34 nm no atraviesan la barrera glomerular. (Chávez,2018).

2. Enfermedad renal

Numerosas enfermedades pueden producir un deterioro morfológico y funcional de los riñones, resultando en incapacidad para llevar a cabo sus funciones de excreción y

regulación. Si esta inoperancia funcional se instaurara de manera progresiva, se acompaña de atrofia de los nefronas y se expresa mediante una disminución lenta y progresiva del filtrado glomerular hablamos de la insuficiencia renal crónica. (Chávez,2018).

La enfermedad renal crónica se define como el daño renal mantenido durante al menos 3 meses, manifestado por alteraciones en la composición de sangre u orina y/o disminución de la función renal con filtrado glomerular, con o sin daño renal. La insuficiencia renal crónica aparece cuando más del 75% de los nefrones funcionales se ven dañados (Fuentes, 2011).

2.1. Etiología de la enfermedad renal

Las etiologías de enfermedad renal más comunes incluyen: insuficiencia renal aguda irreversible, displasia y aplasia renal congénita, enfermedades glomerulares (glomerulonefritis, amiloidosis), enfermedades túbulo-intersticiales (pielonefritis, enfermedades renal idiopática) y neoplasias (linfosarcoma). (Fuentes, 2011).

2.2. Fisiopatología de la enfermedad renal

Debido a que el tejido renal tiene limitadas vías de respuesta a las enfermedades que sufre, los patrones de lesiones y su evolución que inicialmente pudieron ser distintivos en enfermedades severas y prolongadas suelen terminar en un punto terminal similar de enfermedad e insuficiencia renal crónica. La causa primaria responsable del comienzo del proceso de daño renal (que puede ser congénita, familiar o adquirida) está frecuentemente ausente o es irreconocible cuando se realiza el diagnóstico de la enfermedad renal crónica. (Fuentes, 2011).

2.3. Glomerulopatía en enfermedad renal

La enfermedad glomerular es una de las principales causas que conducen a enfermedad renal crónica en el caso de los perros. La glomerulopatía puede ser de origen congénito con predisposición en algunos tipos de razas como el Samoyedo, Bull Terrier, Galgo, Dálmata, Cocker Spaniel inglés, Pincher, Terriers de capa blanca, aunque la mayoría tienen un origen adquirido por formación de inmunocomplejos en el glomérulo (glomerulonefritis) u otros tipos de alteraciones como depósitos amiloides en el interior de glomérulo (amiloidosis). La prevalencia de la enfermedad glomerular, aunque es desconocida podría oscilar entre el 43 y 90% en perros seleccionados aleatoriamente (Navarro, 2021)

La enfermedad glomerular puede clasificarse también en primaria, si el inicio de la lesión se produce en el glomérulo o secundaria, si el daño en el glomérulo se produce después de una lesión en el sistema tubular o por una pérdida de nefronas. La magnitud de la proteinuria refleja la severidad de la enfermedad (Navarro,2021).

2.3.1. Glomerulonefritis

La glomerulonefritis es la causa más habitual de glomerulopatía, y se produce habitualmente cuando se depositan inmunocomplejos (IC) dentro de las paredes del glomérulo (Tabla 1)(Navarro, 2021):

Enfermedad	Causas
Infecciones	Bacterianas: Anaplasmosis; Borreliosis; Bartonelosis; Brucelosis; Endocarditis; Piometra; Pioderma; Infecciones bacterianas crónicas; Protozoarias: Babesia; Hepatozoonosis; Leishmaniasis; Tripanosomiasis; Rickettsiales: Ehrlichiosis; Virales: Adenovirus canino tipo I; Parasitarias: Dirofilariosis; Fúngicas: Blastomicosis; Coccidiomicosis
Neoplasia	Leucemia; Linfoma; Mastocitosis; Eritrocitosis primaria; Histiocitosis sistémica; Otras neoplasias
Inflamatoria	Dermatitis crónica; Enfermedad inflamatoria intestinal; Pancreatitis; Enfermedad periodontal; Poliartritis; Lupus eritematoso sistémico; Otras enfermedades inmunomediadas
mezclanea	Idiopática; Exceso corticoterapia; Terapia con trimetoprim-sulfa; Infusión crónica de insulina; Deficiencia de complemento C3 congénita; Terapia con Masitinib

Tabla 1. Enfermedades asociadas con la glomerulonefritis en caninos. (Navarro,2021).

3. Proteinuria

Bajo condiciones normales la orina canina contiene solo una cantidad reducida de proteínas. Las proteínas con peso molecular mayor de 60 mil a 65 mil dáltones habitualmente no se presentan en grandes cantidades en el filtrado glomerular. La pared capilar glomerular de carga negativa impide el paso de las proteínas de cargas negativas como la albumina. La proteína urinaria también proviene de las secreciones de enzimas, mucoproteínas e inmunoglobulinas por las células epiteliales tubulares y urogenitales inferiores. Estas proteínas secretadas pueden explicar hasta el 50% de la proteína que suele estar presente en la orina. (Fuentes, 2011).

3.1. Fisiopatología de la proteinuria

La proteinuria extrarrenal ocurre en asociación con inflamación o hemorragia urinaria inferior. La proteinuria renal a menudo está causada por lesiones glomerulares y

proporciones de proteína: creatinina urinaria que superan un valor de 3 g/dl. Los cambios en la permeabilidad vascular de las paredes de los capilares glomerulares pueden permitir el paso de proteínas de peso molecular alto; cambios en la membrana (selectividad en el tamaño de las moléculas) y cargas iónicas anormales (selectividad de carga) pueden ser la causa de la proteinuria.(Fuentes, 2011).

Las células mesangiales dañadas producen acumulación de lipoproteínas y productos de su oxidación, que, a su vez, causan incrementos en la producción de matriz, conduciendo a la activación de los monocitos y la producción de factores de crecimiento que promueven la esclerosis, causando quimiotaxis de células inflamatorias dentro del intersticio renal y formación de cicatrices en el riñón, como consecuencia de acciones fibrogénicas.(Fuentes, 2011).

La proteinuria ocasiona hipertensión en los capilares glomerulares y daño en la permeabilidad de la barrera en las paredes glomerulares. Las proteínas perdidas a través de los glomérulos, son captadas por endocitosis de las células del túbulo proximal. Esto causa una sobrecarga en estas células, conduciendo a la activación intrarrenal de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE), así como la activación de citocinas que favorecen la fibrosis, apoptosis e infiltración de monocitos, que aceleran el grado de daño renal. Todo este mecanismo origina que la presión sanguínea sistémica se eleve. Por ello, la proteinuria es un fuerte factor predictor de la falla renal.

4. Métodos para medición de proteinuria.

La proteinuria suele detectarse con los métodos semicuantitativos (tiras colorimétricas y reacción turbidimétrica del ácido sulfosalicílico). Pueden obtenerse resultados positivos falsos si la orina es alcalina. La proteinuria detectada con estos métodos debe interpretarse considerando la densidad y sedimento de la orina. La proteinuria también debe valorarse en el contexto de los cambios del sedimento indicativos de inflamación o hemorragia. (Wsol, 2020).

4.1. Purificación y análisis de proteínas.

Las proteínas se purifican mediante procedimientos de fraccionamiento, la idea de esto es eliminar en forma selectiva los demás componentes de la mezcla, de manera que quede sólo la sustancia deseada(Wsol, 2020). Entre estos procedimientos resaltan:

- Fraccionamiento por disminución de la solubilidad.
- Cromatografía.
- Electroforesis.
- Ultracentrifugación.

El método más común para analizar proteínas es la electroforesis, (la migración de proteínas por acción de un campo eléctrico), existen diversos tipos de ésta y cada una usa un medio de soporte diferente. El uso de la electroforesis permite, después de un proceso de tinción, la resolución de 5 bandas de proteínas. Designadas albúminas, α_1 , α_2 , β y γ , éstas últimas corresponden a globulinas. (Wsol, 2020).

5. Electroforesis

La electroforesis es la migración de una molécula ionizada y con carga neta (proteínas y ácidos nucleicos), bajo la influencia de un campo eléctrico, estas moléculas migran en dependencia de su carga, peso molecular y estructura tridimensional; experimentando una fuerza de atracción hacia el polo que posee una carga opuesta, dejando transcurrir cierto tiempo las moléculas cargadas positivamente se desplazarán hacia el cátodo (polo negativo) y aquellas cargadas negativamente se desplazarán hacia el ánodo (polo positivo). Para controlar el avance de la separación de las moléculas en la matriz y establecer un patrón de fragmentos, las moléculas deberán ser teñidas con diferentes colorantes.

La técnica de electroforesis constituye una parte importante del procedimiento rutinario del análisis de los ácidos nucleicos y proteínas. Es de destacar que a escala analítica, los métodos electroforéticos son de alta sensibilidad, poder de resolución y versatilidad, y sirven como método de separación de mezclas complejas de ácidos nucleicos, proteínas y otras biomoléculas, donde aportan un potente criterio de pureza.

5.1. Tipos de electroforesis.

Se suele hablar de 2 tipos de electroforesis (Diez,2013).

- Electroforesis zonal: la muestra se aplica como una banda y sus componentes migran a través de un disolvente, utilizando además un medio de soporte. En este caso no se determina la movilidad, sino que el único objetivo de la técnica es separar los componentes de la muestra. Los soportes que pueden utilizarse son: acetato de celulosa o gel (agarosa, poliacrilamida).
- Electroforesis capilar: tiene la ventaja que permite la automatización. Se realiza en capilares de sílice fundido. Existen varias modalidades, entre ellas, capilar de zona, cromatografía micelar electrocinética, capilar en gel, isoelectroenfoque capilar y enfoque isoelectrónico.

5.1.1. Electroforesis zonal

Son útiles para lograr la separación de componentes de mezclas complejas. Se aplican pequeñas cantidades de la disolución de proteínas a un soporte sólido, que se impregna con una solución de tampón. Los soportes son en general polímeros y forman un gel poroso

que restringe el movimiento de las moléculas a través del medio durante la electroforesis y disminuyen los flujos de convección del disolvente. El equipamiento requerido es simple (fuente de poder y cubeta vertical u horizontal donde se coloca el soporte y dos electrodos). Como soportes se han utilizado papel (celulosa), almidón, poliacrilamida, agarosa, acetato de celulosa. A continuación, se describen cada uno de ellos. (Diez,2013).

5.1.1.1. ACETATO DE CELULOSA

Es uno de los materiales más utilizados para la electroforesis de proteínas en los laboratorios clínicos. Se trata de un soporte de tipo no restrictivo, lo que significa que permite separar moléculas únicamente en función de su carga. Presenta una baja tinción de fondo, lo que permite transparentarlo o disolverlo para detectar y recuperar, respectivamente, los componentes separados. por lo que, una vez teñidas o reveladas las sustancias que se separan, podrán cuantificarse por densitometría de transparencia. Solo permite evidenciar proteínas cuya concentración sea mayor a 30 mg/dl, lo que implica que su sensibilidad es menor en comparación con la de los geles. Su aplicación principal es separar las proteínas del suero u orina, el llamado proteinograma. (Diez,2013).

Las tiras de acetato de celulosa se colocan en la cámara (fig.1) entre dos compartimentos que contienen los electrodos, que están sumergidos en el mismo amortiguador. El amortiguador más utilizado es el de veronal de pH 8,6. Como en estas condiciones las proteínas tienen una carga neta negativa, el espécimen ha de aplicarse en el extremo de la tira cercano al polo negativo, ya que aquellas migrarán hacia el polo positivo. Se conecta la fuente de alimentación y se aplican unos 2,5 mA por tira. En estas circunstancias, las proteínas se separarán en 25 min. Una vez separadas, las proteínas se localizan en las tiras de acetato de celulosa por medio de diversos colorantes; los más habituales son el rojo Ponceau y el negro amido. Luego, las tiras se transparentan tratándolas con varios disolventes orgánicos y con calor, y quedan listas para la densitometría.

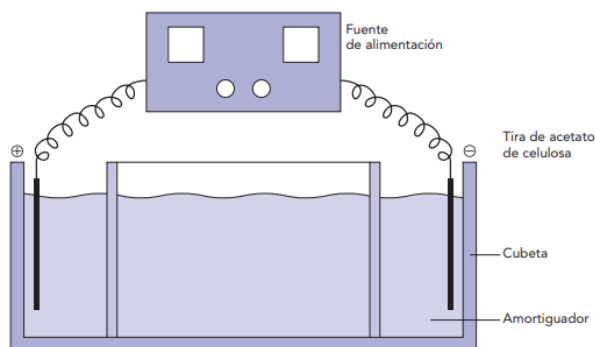


Figura 1. Sistema para electroforesis en acetato de celulosa.

GEL

Permite separar moléculas en función del tamaño, la forma y el punto isoelectrico. Un gel es una malla o red tridimensional de fibras cruzadas, compuesta por un polímero entrelazado que forma una matriz sólida pero porosa, generalmente de agarosa o de poliacrilamida. (Diez,2013).

5.1.1.2 . GEL DE AGAROSA

A mayor concentración de agarosa, los poros serán más pequeños, lo que incrementa la resolución y permite apreciar fragmentos más pequeños.

Normalmente, la agarosa se emplea con concentraciones entre el 1 y el 3%. Los geles de este polisacárido se forman suspendiéndolo en un amortiguador. Después se hierve la mezcla hasta que se forme una disolución clara, se vierte en el molde y se deja enfriar a temperatura ambiente para formar un gel rígido. (Diez,2013).

5.1.1.3. GEL DE POLIACRILAMIDA

El gel está compuesto por diferentes concentraciones de acrilamida/bis-acrilamida, lo que produce redes de distintos tamaños. La porosidad es siempre menor que la de los geles de agarosa, por lo que la resolución es aún mayor. Este es un soporte de tipo restrictivo, lo que significa que la separación se realiza también en función del tamaño de las partículas.

5.1.1.4SDS-PAGE (Electroforesis en Gel de Poliacrilamida con Dodecilsulfato Sódico):

El SDS es un detergente que desnaturaliza proteínas y les otorga una carga neta negativa, lo que les permite migrar en relación directa con su masa. La desnaturalización provoca la pérdida de la estructura terciaria y cuaternaria, de manera que la velocidad de migración es proporcional al tamaño de las proteínas y no a su estructura terciaria ni a su interacción con otras macromoléculas. Es la electroforesis en gel más utilizada ya que permite no solo la identificación de las proteínas, sino que además permite determinar su peso molecular. (Diez,2013).

5.1.1.5. ETAPAS GENERALES DE ELECTROFORESIS ZONALES.

1. Separación electroforética mediante aplicación de un campo eléctrico.
2. Fijación de las proteínas sobre el soporte.
3. Revelado de las proteínas para identificar su presencia y separación. Se realiza mediante colorantes ácidos (Negro Amido 10 B, rojo Ponceau) que se fijan sobre los grupos básicos de las proteínas. El exceso del colorante se elimina con mezclas, metanol-acético-agua destilada, sin que éste arrastre el colorante fijado a las proteínas.

4. Cuantificación de las fracciones electroforéticas, que puede realizarse a través de evaluación visual, elución o densitometría.

Para llevar a cabo la electroforesis convencional se requiere de una cuba electroforética, una fuente de poder, sembradores, un soporte sólido, buffer, colorante y decolorante. Además de la muestra del paciente en estudio, se requiere de un suero control. (Diez,2013).

Sistemas automatizados.

Los grandes laboratorios clínicos realizan diariamente muchas separaciones electroforéticas. En el mercado hay varios sistemas automáticos para la electroforesis que emplean acetato de celulosa o agarosa. Realizan de forma automática todas las etapas del proceso: la aplicación del espécimen, el desarrollo de la electroforesis, el teñido, el decolorado de las tiras y la lectura desintométrica.

5.1.2. ELECTROFORESIS CAPILAR

La electroforesis capilar es una técnica en la que la electroforesis de zona se realiza en capilares de 75 μm de diámetro interno y 25 cm de longitud. El tubo capilar se conecta a un detector en un extremo, y a una fuente de corriente a través de recipientes con un amortiguador (fig. 2). Las principales ventajas de que los capilares tengan un diámetro tan pequeño son que se logra una mayor disipación del calor, un menor volumen del espécimen y una anchura menor de las zonas de separación. La gran disipación del calor permite aplicar grandes voltajes, de unos 5.000 V, que mejoran la eficacia de la separación y reducen el tiempo de esta. (Diez,2013).

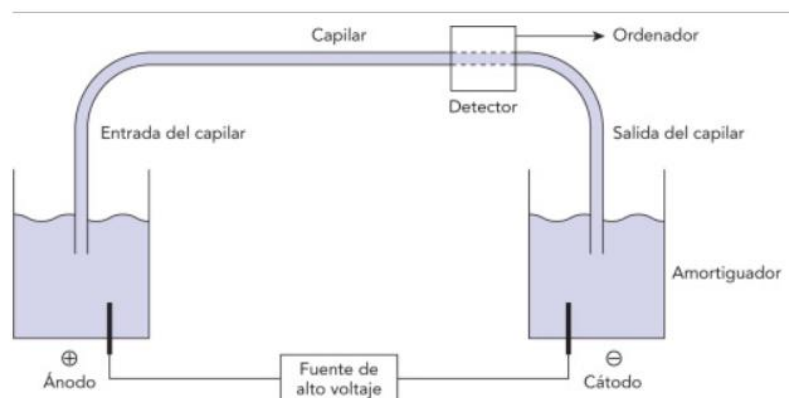


Figura 2. Representación esquemática de un aparato de electroforesis capilar.

Los equipos disponibles en el mercado y que utilizan el principio de electroforesis capilar en solución libre son: Minicap Sebia Electrophoresis y Capillarys Sebia Electrophoresis (Fig.3), que se diferencian, entre otras cosas, en el número de determinaciones simultáneas

que pueden realizarse y los tipos de muestras que pueden analizarse. El soporte es gel de agarosa. (Navarro,2021).

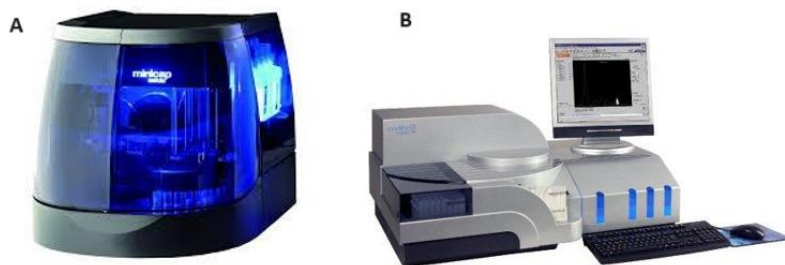


Figura 3. Equipos automatizados A) Minicap Sebia electrophoresis. B) Capillarys sebia electrophoresis.

6. **Electroforesis de proteínas urinarias de caninos.**

La electroforesis de zona en distintos soportes para evaluar las proteínas contenidas en la orina sigue los mismos principios mecánicos que la electroforesis en suero. En los últimos años el uso de esta técnica ha ido incrementado hasta ser considerada por la IRIS como una herramienta más en el diagnóstico de la enfermedad renal en pequeños animales. (Navarro,2021).

Más recientemente, con el objetivo de encontrar biomarcadores renales en orina canina han combinado SDS-PAGE asociado a espectrofotometría de masas, asociando la presencia de componente tubulares como uromodulina, trigonelina y carnosina a la presencia de ERC. (Navarro,2021)

6.1 **Metodología para realizar una electroforesis capilar (automatizada)**

Uno de los objetivos de esta revisión bibliográfica es: describir la metodología empleada para realizar la electroforesis de proteínas urinarias en caninos, de esta forma a continuación se describirá la técnica para realizar electroforesis capilar (Automatizada) ya que actualmente es la técnica más utilizada en el laboratorio clínico. (Wsol, 2020).

Las ventajas que presenta frente a otras técnicas de separación de proteínas son la automatización del proceso, la excelente resolución, el mínimo consumo de reactivos y excreción de productos tóxicos, la poca cantidad de muestra requerida, el corto tiempo de procesado, y la capacidad de procesar varias muestras a la vez (Navarro,2021).

6.1.1 **Procedimiento para toma y procesado de la muestra de orina**

1 Recolección de muestra

En los caninos la recolección de la orina se puede realizar por micción o por cistocentesis con una jeringa. Si la muestra no es analizada de inmediato se almacena a 4°C hasta su posterior evaluación. (Wsol, 2020).

2 procesamiento de la muestra

Para la realización de la electroforesis capilar, y con el fin de eliminar componentes que pudieran interferir en la técnica, originar artefactos y para concentrar las proteínas existentes en la orina, esta se trata previamente mediante un proceso de dialización y concentración. (Wsol, 2020).

De esta forma las muestras son introducidas en la centrifuga a 2000 rpm durante 10 min, y posteriormente son sometidas a un proceso de concentración proteica, mediante la utilización de columnas de dialización. (Wsol, 2020).

La cantidad de muestra en la columna de dialización debe ser de unos 4 mL. Tras este paso se vuelve a centrifugar la columna para concentrar las proteínas urinarias, pero esta vez se realizan ciclos de 10 minutos a 3500 rpm. La centrifugación se realiza en ciclos de 10 minutos con el objetivo de que en la columna quedara una muestra oscilante entre los 200 y los 500 microlitros (Ilustración 1). (Wsol, 2020).



Ilustración 1. Tubo de dialización con muestra de orina tras centrifugación.

Cuando las muestras llegan a los niveles indicados, se homogeniza el contenido de la columna con una micropipeta de 20 -200 µL. Esta muestra representaba la orina ya dializada lista para la realización de la electroforesis capilar urinaria, se introduce en un nuevo Eppendorf y se identifica en la tapa con el nombre del animal.

6.1.2. Equipo automatizado de electroforesis capilar urinaria

Para la realización de la electroforesis capilar urinaria se necesita un mínimo de 100 µL de muestra dializada para su correcta lectura. La muestra de orina dializada se introduce en el equipo de Minicap Sebía (Ilustración 2), que debió ser encendido al mismo tiempo que se procesaron las muestras en la centrifugadora, ya que se requiere un tiempo prolongado de encendido, pasado este tiempo el equipo mostrara un mensaje de “esperando tubos de muestra”. A lo que se procede a la introducción de las muestras en la posición donde marca la interfaz, introduciendo un máximo de 4

muestras por ciclo de lectura para evitar la saturación de capilares (ilustración 3) y al cerrar la tapa del instrumento, el ciclo de electroforesis capilar se iniciara de forma automática. (Wsol, 2020).



Ilustración 2. Equipo Minicap Sebia. Utilizado.

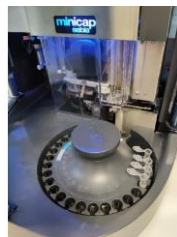


Ilustración 3. Muestras introducidas para la realización de electroforesis capilar urinaria.

El procedimiento del equipo tiene una duración aproximada de 10 minutos. Durante este tiempo los capilares se llenaban con el tampón de separación. Después las muestras se inyectaban por aspiración en el polo anódico del capilar, mediante la aplicación de un alto voltaje para que se produjera la migración a lo largo del capilar. Cuando las muestras alcanzaban el polo catódico, se producía la cuantificación de las fracciones proteicas. Con todo ello se obtenía la curva electroforética (proteinograma) de cada animal. (Wsol, 2020).

7. Proteinograma

Es una representación en forma de un gráfico obtenida por un densitómetro, que representa las diferentes fracciones de proteínas presentes en una muestra biológica, separadas mediante la electroforesis. (Adana,2019).Cada pico en este grafico corresponde a una fracción proteica específica, y la altura de los picos indica la concentración relativa de esas proteínas en la muestra. Las principales fracciones proteicas que se pueden identificar en un proteinograma incluyen la albúmina y las globulinas (α_1 , α_2 , β y gama) cada una de estas fracciones incluirá un grupo de diferentes proteínas. En la figura 4 se presenta el esquema de una separación de proteínas en orina por electroforesis, y la lectura densitométría correspondiente.

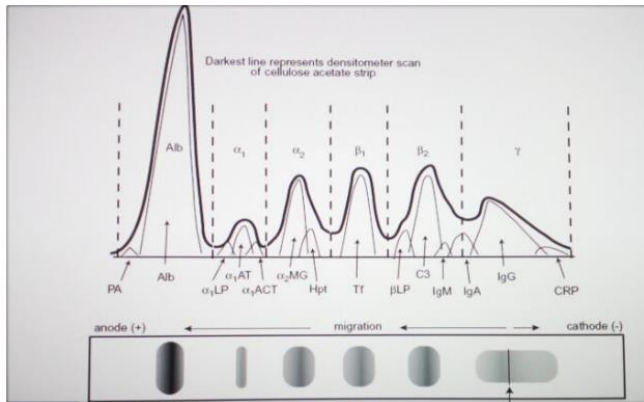
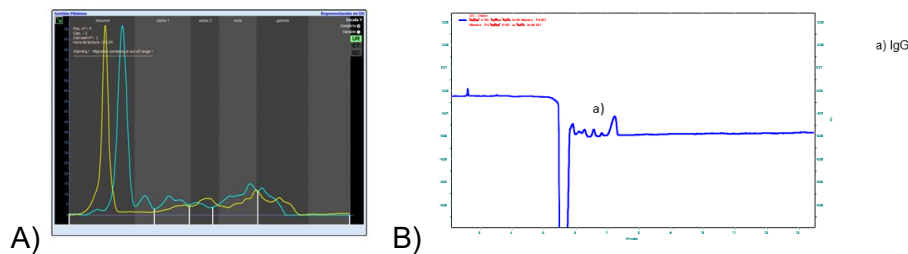


Figura 4. Esquema de una separación de proteínas en orina por electroforesis y grafico de la lectura desintométrica. Se puede observar en cada fracción : (Alb, albumina; alfa1 LP, alfa1 Lipoproteina; alfa1 AT, alfa1 Antitripsina; alfa1 ACT, alfa1 – Antiquimiotripsina alfa2 MG, alfa2 Macroglobulina; Hpt, Haptoglobina; Tf, Transferrina; beta LP, beta Lipoproteína; C3, Fracción del complemento C3; CRP, y las gamma globulinas. (Duarte,2019).

VIII. RESULTADOS

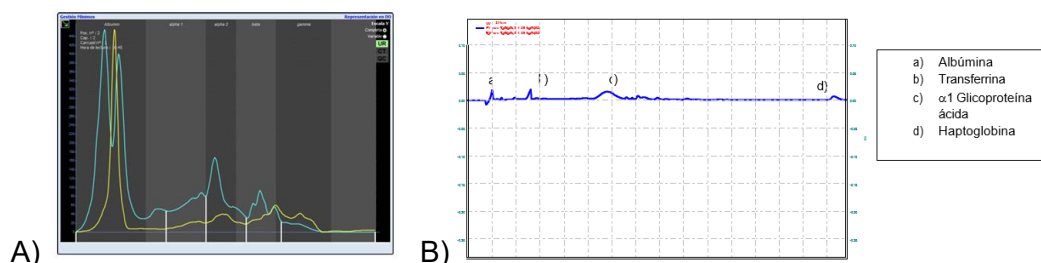
Los patrones electroforéticos surgieron clásicamente de la observación de la relación entre diversas enfermedades y determinadas alteraciones en el proteinograma. La observación del proteinograma aporta una información semicuantitativa sobre las proteínas mayoritarias de cada banda y su relación con ciertos procesos patológicos.

A continuación se presentan algunos ejemplos de patrones de proteinogramas obtenidos por electroforesis de proteínas urinarias.

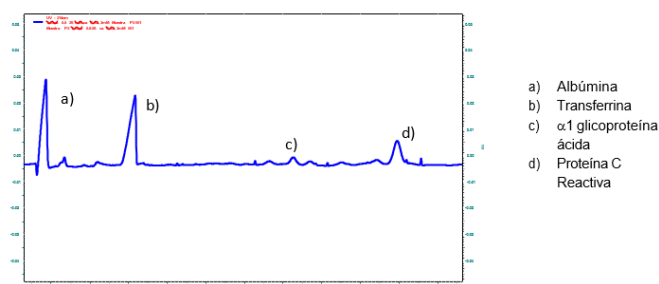


Proteinograma 1. A) La línea amarilla representa la curva control. La línea azul representa la muestra de orina de un paciente sano.. El proteinograma de orina en los animales sanos no presenta ninguna fracción o simplemente una muy discreta banda de albúmina, tras concentración de la muestra (Adana, 2019). B) proteinograma de un paciente sano Existen proteínas de bajo peso molecular y diámetro que tienen la capacidad de atravesar al glomérulo, y de no ser así, ser reabsorbidas por el túbulo proximal, tal es el caso de las proteínas de Bence Jones, que son cadenas ligeras de inmunoglobulinas de entre 22.5 y

40 kDa que se encuentran en aproximadamente 40% de los casos y se sugiere, podrían ser las que están presentes en la muestra de paciente sano. (Fuentes, 2011).

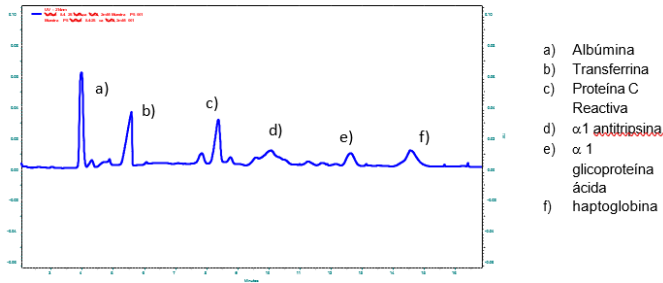


Proteinograma 2. A) La línea amarilla representa la curva control. La línea azul representa la muestra de orina de un paciente con enfermedad renal crónica (Adana, 2019). B) paciente con enfermedad renal crónica. Se observa un incremento de albumina, transferrina, alfa 1-glicoproteína ácida y haptoglobina. Dependerá del estadio en el que se encuentre la falla renal para manifestar cierto tipo y número de proteínas. (Fuentes, 2011).



Proteinograma 3. Paciente con síndrome nefrótico.

El glomérulo normalmente funciona como un mecanismo de filtrado al ser selectivo con su carga que tiene 3 componentes: el endotelio fenestrado del glomérulo, la membrana basal glomerular y las células epiteliales viscerales (podocitos), éstas, en su mayoría, contienen glicoproteínas cargadas negativamente; cuando circulan proteínas aniónicas, son repelidas, mientras que proteínas catiónicas son atraídas; éste procedimiento es generado en la glomerulonefritis, característica del síndrome nefrótico (Choi y Lee, 2003), debido a esto, la albúmina (cuya carga es negativa) es repelida y se encuentra en menor concentración en orina (como lo muestra el electroferograma) y las proteínas con carga positiva, como las pertenecientes al grupo alfa 1, se encuentran en mayor proporción; además, debido a los complejos inmunes que se presentan en esta enfermedad, éstas pueden ir acompañadas de Inmunoglobulinas G. (Fuentes, 2011).



Proteinograma 4 paciente con piometra.

Los pacientes con piometra, se caracterizan por tener hiperglobulinemia como consecuencia de la estimulación crónica antigénica del sistema inmune. La albúmina es la primera proteína que comienza a excretarse por vía renal, lo que explica el hallazgo de la hipoalbuminemia. La piometra canina es una enfermedad de carácter hormonal que se caracteriza por producir glomerulopatía por depósito de complejos inmunes responsables de alteraciones renales de gravedad variable dependiendo del grado de progresión, y conforme avanza el cuadro mayor será el daño de tipo tubular que provoca la eliminación de otras proteínas que de manera normal se reabsorben a este nivel. (Fuentes, 2011).

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En perros, un diagnóstico tardío de enfermedad renal está asociado con un pobre pronóstico y, en la mayoría de los casos, se desarrolla daño potencialmente irreversible. La proteinuria, a su vez, afecta la progresión de la nefropatía y, en algunos casos, como en la glomerulonefritis, es el primer y único signo de la enfermedad. (Chávez, 2018). La proteinuria en perros debe ser monitoreada constantemente si pertenecen a las razas que tienen un alto riesgo de enfermedades renales (p. ej., Shar-pei) o si viven en áreas endémicas de enfermedades que pueden causar daño glomerular (p. ej., Leishmania). Un reconocimiento temprano y preciso de la proteinuria es necesario para ofrecer una adecuada atención médica. (Navarro, 2021)

Por lo tanto, el análisis cuantitativo de proteína urinaria es un proceso fundamental en el diagnóstico temprano y posterior monitoreo de la enfermedad renal en perros. Es gracias a la técnica de electroforesis, un método no invasivo, que se puede obtener información de múltiples proteínas en una simple muestra de orina, para localizar el origen de la proteína urinaria, lo que proporciona una sensibilidad diagnóstica comparable con resultados obtenidos con biopsia renal. La electroforesis es considerada la prueba de oro para el análisis cualitativo y cuantitativo de proteínas urinarias (Navarro, 2021).

Como se ve en los proteinograma numero 1. La orina en los animales sanos no se presenta ninguna fracción o simplemente una muy discreta banda de albúmina, tras la concentración de la muestra. La nefrona de individuos sanos tiene una permeabilidad selectiva en los glomérulos y se produce cierta reabsorción a nivel de los túbulos proximales. La orina de un animal sano no contiene proteínas o contiene muy poca cantidad de ellas, permitiendo solamente el paso de proteínas de bajo peso molecular <40kDa por el glomérulo, mientras que el resto de las proteínas con mayor peso molecular tienen el paso restringido.

Como se ha mencionado el objetivo de los estudios realizados mediante electroforesis, es el de diferenciar entre proteinuria de origen glomerular, tubular o mixto, basándose en la migración de las diferentes proteínas. Las proteínas de alto peso molecular se relacionan con lesiones de origen glomerular y las proteínas de bajo peso molecular se relacionan con lesiones de origen tubular. (Navarro,2021). De esta manera el proteinograma obtenido luego de una electroforesis de proteínas urinaria, nos ayuda a localizar la causa de la proteinuria. (Galledo,2001)

De esta forma gracias a la interpretación del proteinograma y al análisis de cada una de las fracciones de proteínas que este presenta, podemos relacionarlo con diferentes patologías como se muestran en los proteinogramas 2, 3 y 4, es así que se puede clasificar proteinuria de la siguiente forma(Galledo,2001):

Proteinuria glomerular selectiva: formada principalmente por albúmina (>80%) y transferrina, escasas globulinas alfa-1-beta, alfa-2 y gamma. Es la proteinuria de origen glomerular, presente en los síndromes nefróticos con lesiones mínimas en la membrana glomerular (lesión renal leve debida a diabetes mellitus, enfermedad por inmunocomplejos). Proteinuria glomerular no selectiva: también es de origen glomerular, se observan todas las fracciones globulínicas, la albúmina, está representando una proporción menor (50-60 %), el patrón electroforético se parece al del suero sanguíneo. La encontramos en lesiones más importantes como la glomerulonefritis grave, la amiloidosis renal o el síndrome hemolítico urémico. (Galledo,2001)

Proteinuria tubular: es una proteinuria que aparece en tubulopatías congénitas y en otras adquiridas, como en los estados hipopotasémicos o en la insuficiencia renal aguda con extensa degeneración epitelial. El proteinograma nos indicará principalmente, globulinas alfa, beta y gamma; la albúmina destaca poco. Se puede observar en nefritis tubular intersticial, riñones poliquísticos, hipercalsuria y necrosis tubular aguda debida a isquemias. Proteinuria glomerular tubular mixta: es una proteinuria disglobulinúrica en la que predomina una paraproteína anormal con una banda muy definida en la zona de la beta-

gamma, que corresponde a la proteína de Bence-Jones. Aparece en la enfermedad renal avanzada que afecta a toda la nefrona: insuficiencia renal crónica y pielonefritis crónica. En todos los casos de extensa afección de la médula ósea y amiloidosis sistémica. (Galledo,2001)

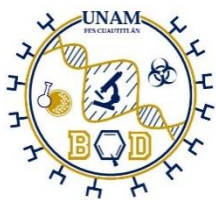
X. CONCLUSIONES.

De la realización de este trabajo podemos concluir:

- Se logro cumplir con los objetivos planteados en esta revisión bibliográfica, ya que el análisis de las diferentes fuentes bibliográficas permitió, conocer y entender la aplicación y utilización de la técnica de electroforesis como un método en el diagnostico de enfermedades renales en los caninos.
- Se describieron los diferentes tipos de electroforesis empleados para el análisis de proteínas urinarias.
- Se logro describir la metodología empleada para realizar una electroforesis capilar automatizada.
- Se interpretaron y analizaron diferentes proteinogramas, lo que permitió destacar la importancia de la electroforesis de proteínas urinarias, en el diagnostico de diferentes enfermedades en caninos.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- García.(2016). Actualización de la practica de electroforesis de proteínas. UNAM. México.
- Muggenburg.M.(2021). Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa. ENEO. UNAM. México.
- Navarro, P. (2021). Estandarización, Validación y Establecimiento de Valores de Referencia en Electroforesis Capilar Urinaria en Perros Sanos. Comparativa con Enfermos Renales. [Tesis de doctorado]. Universidad Católica de Valencia.
- Fuentes, I. (2011). Caracterización de proteínas presentes en orinas de perros con diferentes enfermedades renales, mediante electroforesis capilar. Tesis doctoral. UNAM. México.
- Wsol, M.(2020). Uso de la electroforesis capilar urinaria: comparativa entre la especie canina y felina. Tesis doctoral. Universidad católica de valencia.
- Chávez, O. (2018). Proteinuria. en perros: diagnostico y manejo terapéutico. Tesis de posgrado. Universidad autónoma de Querétaro. México
- Adana, R.(2019). Indicaciones e interpretación del proteinograma. Formación medica continua en atención primaria. Vol.26. pag.263-270. ELSEVIER.
- Duarte, A.(2019). Interpretación de la proteinograma. Clínica Diaria.
- Galledo.C.(2001). El proteinograma en la practica clínica. Medicina integral. Vol.38.num.3 paginas 127-132.ELSERVIER.
- Canul, (2005). Correlación del índice proteína/creatinina urinaria de una muestra de orina con la depuración de proteínas en orina de 24 hrs en nefritis lupica. Tesis doctoral. UNAM. México.
- Diez,I.(2013). Evolución de la electroforesis capilar como método de detección y medida de proteínas de Bence Jones. Revista del laboratorio clínico. Vol. 6. Pag.60-67. ELSEVIER.
- Mercado, A. (2011). Electroforesis de proteínas en orina como herramienta en el diagnostico de nefropatías. Medicina universitaria. Vol.13 pag.127-132. ELSEVIER.
- Hernández.(2009). Metodología y aplicaciones en proteómica clínica. Diálisis y trasplante. Vol.30. pág. 139-143. ELSEVIER.



Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán



Diplomado: Medicina de Laboratorio
Basada en la Evidencia
Aplicada en la veterinaria

**Nuevos marcadores de lesión
renal en caninos y felinos**

Tenorio Tranquilino Evelyn Guadalupe

Profesores:

Dr. Guillermo Valdivia Anda

MDH. MVZ. Graciela Castañeda Aceves

Fecha de entrega: 07 de agosto del 2024

Índice

Introducción	1
Antecedentes.....	1
Marco de referencia	5
Anatomía del aparato renal.....	5
Conceptos importantes	6
Clínica de la enfermedad	6
Biomarcadores de la función renal	8
SDMA:.....	8
RPB:.....	9
NGAL:	9
Cystatina C:	10
KIM-1:.....	10
Hipótesis u objetivos	11
Material y métodos	12
Resultados	13
Discusión	14
Conclusiones.....	16
Bibliografía	16

Introducción

Dentro del mundo de la medicina veterinaria se cuentan con una gran variedad de patologías y enfermedades que afectan a los animales de compañía de los cuales destacan perros y gatos. Estas enfermedades van desde problemas cardiovasculares, deficiencia en la nutrición, problemas hormonales, entre muchos otros, sin embargo, en este trabajo nos compete la enfermedad renal como tema de interés. Dentro de las patologías renales se encuentra la enfermedad renal crónica (ERC), siendo esta la más frecuente en dichos animales, con una prevalencia de entre el 0.5 al 1.5% para los perros y entre el 1-3% en gatos (O. Cortadellas (2012)), una afección que se presenta con mayor frecuencia en animales geriátricos, aunque puede afectar a perros y gatos de cualquier edad. Por otro lado, hablando de Enfermedad Renal Aguda esta afección se caracteriza por una pérdida de la función renal de forma rápida en un corto periodo de tiempo, aquí como tal no se cuentan con estadísticas, sin embargo, si no se le da un buen tratamiento a esta patología, puede desencadenarse una enfermedad del tipo crónico, y esta, a su vez si no es tratada o controlada pueden ocasionar episodios de insuficiencia renal aguda a lo largo que transcurren con la patología crónica. Debido a que son temas de relevancia en el ámbito de la medicina veterinaria, es de suma importancia encontrar la manera adecuada y oportuna de diagnosticar a los pacientes, para evitar el desarrollo de la enfermedad, así como brindarles un control y tratamiento correcto y temprano. Dentro de los estudios que se pueden realizar se encuentra el examen general de orina, métodos de imagenología, estudios de sangre como biometría hemática, perfil bioquímico, y lo que compete a esta investigación documental: el uso de Biomarcadores de la función renal.

Antecedentes

Durante años se han realizado diversos estudios para el diagnóstico de la enfermedad renal (ya sea aguda o crónica) y habían resultado ser indicados, hasta que en un momento ya no fue así, es aquí donde surge la necesidad de encontrar nuevos métodos o en este caso nuevos biomarcadores que sean más sensibles y específicos con respecto al daño renal, para poder dar una orientación diagnóstica adecuada, un control y un tratamiento de las mismas, ayudando así a los pacientes a tener un pronóstico favorable y que no termine en una insuficiencia grave vital que pueda llevar a la muerte del perro o gato en cuestión.

En 2012 se tenían reportados algunas de las pruebas diagnósticas utilizadas para el diagnóstico de las patologías renales en los animales. Estas pruebas eran de gran utilidad sin embargo su

sensibilidad y especificidad no son tan buenas para poderlas considerar como un determinante de la enfermedad.

El estándar de oro utilizado para evaluar la función de los riñones es la tasa de filtración glomerular (TFG) este parámetro está directamente relacionado con la masa de órgano. La TFG se puede estimar mediante las pruebas de aclarado o por medio de marcadores indirectos (urea y creatinina), los valores de referencia para los aclarados se encuentran entre 2-5 ml/min/kg. Sin embargo, éstos pueden variar con respecto a raza, peso y edad del animal, lo que provoca que los rangos se amplíen y no sean tan específicos.

La concentración de creatinina sérica como marcador indirecto es considerado el más utilizado en medicina veterinaria, esta molécula de pequeño tamaño (113 daltons) se filtra libremente por el glomérulo, sin que existan reabsorción ni secreción tubular, y a pesar que de manera fisiología normal se encuentra en pequeñas cantidades, tiene una serie de desventajas: la creatinina no es sensible para detectar disminuciones leves en la tasa de filtración glomerular, sus valores se ven alterados si existe un consumo proteico (generalmente de carne) previo antes de la muestra, la deshidratación así como el uso de ciertos fármacos nefrotóxicos. En la figura 1 se puede observar cómo es la relación de la TFG y la concentración de creatinina sérica, nótese que inicialmente, una disminución importante en la TFG se acompaña de cambios muy leves en la concentración de creatinina; mientras que en animales que ya presentan una reducción muy severa de la TFG (es decir animales ya con una patología per se) pequeños descensos adicionales de la TFG provocan grandes cambios en la concentración de creatinina. (O. Cortadellas (2012))

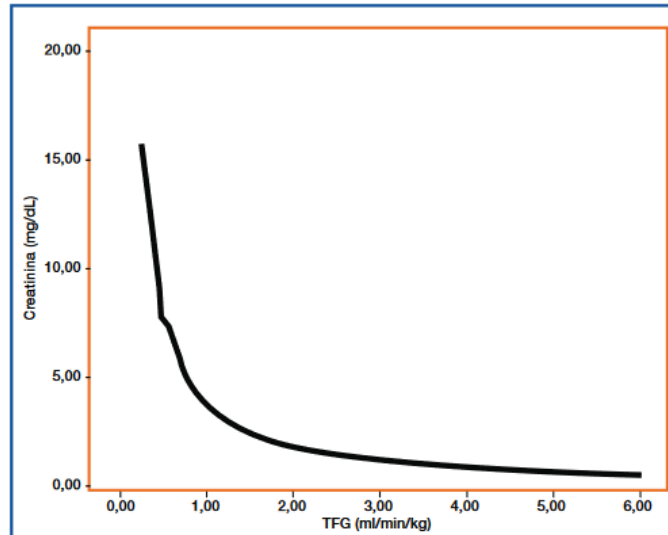


Imagen 1. Gráfico de la relación entre los niveles de creatinina y la TFG

El otro marcador utilizado es, la urea, esta molécula se sintetiza en el hígado a partir del catabolismo de los aminoácidos procedente de las proteínas de consumo exógeno, y a pesar de que los niveles de urea aumentan con la disminución de la TFG su concentración en sangre se ve afectada por diversos factores extrarrenales como la deshidratación, la ingesta, sangrado gastrointestinal, y todas aquellas acciones que aumentan el catabolismo proteico (O. Cortadellas (2012))

Otra prueba para evaluar la función renal es la determinación de uromodulina o también conocida como proteína de Tamm-Horsfall en una muestra de orina, esta determinación es fundamental para evaluar la función renal, con respecto de su origen, la proteinuria puede clasificar en 3 diferentes orígenes:

- Pre-renal: La concentración de proteínas en plasma esta alterada y por lo mismo estas pasan a la orina.
- Renal: Proteína patológica consecuencia de una lesión estructural o funcional de un proceso inflamatorio, esta elevación de proteínas en orina puede deberse a la permeabilidad de la barrera de filtración glomerular, disminución en la capacidad de reabsorción o puede ser debido a una inflamación en el intersticio.
- Post renal: Proteínas del tracto urinario distales o lejanos del riñón. Puede deberse a un proceso inflamatorio o infeccioso propio del tracto urinario.

Debido a esta clasificación, no se puede determinar como un marcador específico para daño renal, sin embargo, ayuda mucho a la orientación sobre la patología y el origen de la misma.

Así mismo existen otros estudios clínicos que se pueden realizar, como lo es una biometría hemática, en esta determinación se va a observar que el paciente transcurre por una anemia normocítica normocrómica no regenerativa por falta de estímulo por deficiencia de Eritropoyetina, y un perfil bioquímico, en el cual se observan alterados, la albumina, (hipoalbuminemia) fosforo, (hiperfosfatemia) Calcio, Potasio, (hipopotasemia) y bicarbonatos (acidosis metabólica). Como complemento diagnóstico, el análisis de orina y urocultivo nos puede dar un panorama general para esta patología, sobre todo para infecciones microbianas.

Por último, de acuerdo con la Sociedad Internacional de Interés Renal (IRIS), otro determinante para los enfermos renales es la toma de presión arterial, en estas patologías se trata de una hipertensión arterial sistémica (HAS), la cual está asociada directamente a problemas renales. Los animales hipertensos pueden NO presentar síntomas durante meses y años. Sin embargo, el HAS contribuye a la progresión de la enfermedad renal.

Cada una de estas determinaciones ayudan a poder clasificar al paciente enfermo renal tal y como se observa en la imagen 2, las concentraciones de la SDMA (marcador del que se hablara más adelante) la creatinina sérica, la presión arterial y el radio de proteinuria colocan en un estadio al paciente, sin embargo, este no es un diagnóstico oportuno, sino más bien una clasificación de la enfermedad, que ayuda al médico a determinar el grado de insuficiencia que padece el animal.

Todo esto nos da una orientación de la patología y nos indica más que nada la etapa o el estadio por el transcurre el paciente, pero surge la necesidad de tener un diagnóstico oportuno, más allá de las determinaciones mencionadas previamente, la historia clínica y la experiencia del médico veterinario, y es justo aquí donde entran los nuevos biomarcadores para la evaluación de la función renal.

					
		Estadio 1 Sin azoemia (creatinina normal)	Estadio 2 Azotemia leve (creatinina normal o ligeramente elevada)	Estadio 3 Azotemia moderada	Estadio 4 Azotemia intensa
Creatinina en $\mu\text{mol/L}$ Estadio según la creatinina estable	Canina	Menos de 125 (1,4 mg/dL)	125 – 250 (1,4 – 2,8 mg/dL)	251 – 440 (2,9 – 5,0 mg/dL)	Mayor de 440 (5,0 mg/dL)
	Felina	Menos de 140 (1,6 mg/dL)	140 – 250 (1,6 – 2,8 mg/dL)	251 – 440 (2,9 – 5,0 mg/dL)	Mayor de 440 (5,0 mg/dL)
SDMA* en $\mu\text{g/dL}$ Estadio según la SDMA estable	Canina	Menos de 18	18 – 35	36 – 54	Mayor de 54
	Felina	Menos de 18	18 – 25	26 – 38	Mayor de 38
UPC ratio Estadificación basada en la proteinuria	Canina	Sin proteinuria <0,2 Proteinuria en el límite 0,2 – 0,5 Proteinuria >0,5			
	Felina	Sin proteinuria <0,2 Proteinuria en el límite 0,2 – 0,4 Proteinuria >0,4			
Presión arterial sistólica en mm Hg Estadificación basada en la presión arterial		Normotenso <140 Prehipertenso 140 – 159 Hipertenso 160 – 179 Hipertenso acusado ≥ 180			

Imagen 2. Estadificación de la ERC, de acuerdo con IRIS

Marco de referencia

Anatomía del aparato renal

Anatómicamente los riñones son órganos pares de color marrón-rojizo, que tiene una característica forma de frijol y una superficie lisa, se encuentran bajo el techo de la cavidad abdominal, a ambos lados de la columna vertebral.

El parénquima de este órgano se encuentra envuelto por fibras de colágeno, y en el borde se cuenta con el seno renal, el cual, comienza con la vía excretora, la pelvis renal, el uréter, tejido graso, los vasos sanguíneos y los nervios (D. Villagra (2017))

El parénquima se subdivide en: Corteza del riñón (que contiene la zona externa y la zona interna o yuxtaglomerular) y la Medula del riñón (que a su vez contiene la base de la pirámide y la papila renal) así mismo se cuenta con la unidad anatómica funcional de los riñones que es la nefrona (el riñón está compuesto por más de un millón de estas estructuras), a grosso modo está compuesta por:

- Segmento contorneado proximal.

- Asa de Henle.
- Túbulo contorneado distal.
- Túbulo colector.
- Conducto papilar.
- Área cribosa (que desemboca en la pelvis renal)

Bien se sabe que la función del riñón se puede englobar en 3 grandes mecanismos: Regulación de los equilibrios: Electrolíticos y ácido base, capacidad de detoxificación y su función endocrina (Moscoso, G. (2021)), Cada uno de ellos se ve afectado conforme avanza el daño en el riñón, evidenciando primero un desequilibrio (ya sea de electrolisis o bicarbonatos) seguido de los análisis de detoxificación, y finalizando con la parte hormonal, viéndose afectada la concentración de eritropoyetina y los otros mecanismos que esta regula como la maduración y producción de la fórmula roja.

Conceptos importantes

Ahora sí, una vez recordando un poco sobre la anatomía de sistema renal y las funciones que llevan a cabo es importante retomar algunos conceptos que nos ayudaran a lo largo del desarrollo de esta investigación documental.

- Daño renal: Evidencia de una patología renal tanto microscópica como macroscópica utilizando algún estudio de imagen o análisis de laboratorio.
- Enfermedad renal: Alteraciones estructurales y funcionales de uno o ambos riñones
- Insuficiencia renal: Incompetencia en la función de los riñones.

Clínica de la enfermedad

La sinología clínica de los pacientes que padecen de algún tipo de daño renal, puede comprender un cuadro clínico con sintomatologías como poliuria, polidipsia, pérdida de peso, falta de apetito, letargo, deshidratación, vómitos y mal aliento, durante la exploración física el paciente puede presentar: anomalías renales palpables, evidencia de la pérdida de peso, deshidratación, mucosas pálidas, úlceras urémicas, hemorragias y desprendimiento en la renina, entre otras, sin embargo, estos aspectos son demasiado generales para poder determinar que se trata de un paciente renal, sobre todo si se trata de un profesional médico con poca experiencia, es por ello que se requiere implementar otro tipo de métodos para determinar y discriminar el tipo de patología por la que está cursando el paciente. Cabe aclarar que un Médico veterinario con

experiencia suficiente con paciente renales podría tener una noción más clara que se trata de este caso con tan solo la exploración física y la historia clínica, no obstante, la Medicina de Laboratorio basada en la Evidencia, requiere más allá de la experiencia clínica del Médico, sino resultados precisos que ayuden y corroboren el estado del paciente, es aquí donde surgen la necesidad y utilidad de implementar pruebas de laboratorio para la determinación de dichas enfermedades tales como: la TFG (Taza de filtración glomerular) y Concentración de creatinina (IRIS 2023)

Las principales causas de ERC en perros y gatos son:

- Enfermedades infecciosas
- Enfermedades del tipo metabólico
- Hipopotasemia.
- Hipercalcemia.
- Neoplasias: linfoma, neuroblastoma, carcinoma renal.
- Obstrucción tracto urinario.
- Urolitos/nefrolitos.
- Fallo renal agudo previo.
- Enfermedades renales familiares o congénitas
- Fármacos.
- Tóxicos: metales pesados cisplatino, otros.
- Enfermedades inmunomediadas.

Existen 2 tipos de daños a nivel renal, que se pueden clasificar como Agudo y Crónico:

1. Daño renal agudo: Es la disminución de manera repentina (horas o semanas) del filtrado glomerular, así como la incapacidad de detoxificación por parte de los riñones, por lo tanto, hay un desequilibrio Acido-Base, a su vez un aumento en la concentración de la orina, y por lo tanto hay poliuria como signo clínico
2. Daño renal crónico: Disminución de la función renal, hay una baja de la TFG, en este tipo de daño se pierde la capacidad de reserva funcional del riñón, es decir es aún más severa que el daño agudo, generalmente es asintomática, lo que la vuelve más difícil de diagnosticar a nivel de clínica. (Moscomo, G. (2021))

Biomarcadores de la función renal

De acuerdo con la Sociedad Internacional de Interés Renal (IRIS) en 2022, se ha establecido que un biomarcador ideal debe de cumplir con las siguientes características:

- Debe ser detectable en orina y o sangre utilizando métodos de fácil acceso, es decir, debe ser NO invasivo
- Altamente predictivo para lesión renal: alta sensibilidad y especificidad
- Proporciona información sobre etiología (es decir el origen de la patología, ya sea tubular, glomerular, etc.)
- Reflejar la gravedad de la lesión renal
- Predecir la probabilidad de reparación del daño

También se puede realizar una clasificación de los biomarcadores (Seihs, M. (2014)):

- Enzimas liberadas por las células tubulares dañadas (FA, GGT)
- Moléculas de bajo peso molecular que se expresan en el daño renal agudo (microglobulinas, RPB, Cystatina C)
- Proteínas específicamente producidas en el riñón por condiciones de daño renal agudo (NGAL)

Ahora sí, teniendo en cuenta estos aspectos, podemos entrar en materia sobre los nuevos biomarcadores y la utilidad que tiene cada uno de ellos en el diagnostico de patologías renales:

SDMA:

O también conocida como Arginina dimetilada simétrica, es una forma metilada del Aminoácido Arginina, que se encuentra en todas las proteínas intracelulares y es liberada a la circulación durante el catabolismo proteico.

El 90% de la SDMA se excreta a través de los riñones y ha demostrado ser un marcador sustituto de la TFG, es decir, que también funciona como un marcador de la filtración. Se ha indicado que la concentración de SDMA permite detectar una disminución de la TFG antes de que se observe una elevación de la concentración sérica de creatinina, lo que lo hace un marcador más sensible. El SDMA aumenta con tan solo una pérdida del 25% de la función renal, caso contrario de la creatinina, la cual aumenta hasta que hay un 75% de la disminución de la función, así mismo este biomarcador guarda una relacion estrecha con la TFG, en diferentes estudios se ha observado que aumenta hasta 17 meses antes que la creatinina seria en gatos, y en el caso de los perros hasta 9.8 meses antes.

Actualmente, se ha reconocido su utilidad como prueba de detección precoz para la Enfermedad Renal Crónica (ERC), al ser un biomarcador de elevada especificidad para detectar la reducción de la TFG, ya que es menos influenciado por factores extra-renales que la creatinina, tal y como se observó en el apartado de antecedentes. Aunque se puede esperar una pequeña variabilidad diaria biológica e individual, hay evidencias de que la masa muscular o la ingesta reciente de proteínas no influyen de manera significativa de SDMA, caso contrario de la creatinina. (Elliot, J. (2020))

RBP:

Proteína de unión a retinol, es una proteína de bajo peso molecular, sintetizada por el hígado, funciona como una proteína portadora para el retinol (Vitamina A1). Cuando no se une a esta vitamina, se filtra y luego se metaboliza y reabsorbe por los túbulos renales proximales, por lo que se ha sugerido como un marcador de disfunción tubular proximal. La RBP es filtrada por el glomérulo renal y posteriormente es reabsorbida en el túbulo proximal. Cuando hay algún daño en las células del epitelio tubular proximal aparecen concentraciones anormales en orina ya que no se pueden reabsorber. Esta molécula indica y puede dar indicios sobre donde es que está el daño en el riñón, no obstante, tiene baja especificidad es baja ya que se ve afectada por numerosos factores extrarrenales, principalmente de origen hepático.

NGAL:

Lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos, es una proteína de 25 kDaltones, que originalmente fue descubierta en los gránulos de neutrófilos, y se libera en respuesta a una infección de tipo bacteriana (Murtensson et al., 2012), actualmente es uno de los biomarcadores más estudiados hasta ahora en medicina veterinaria. En un estudio prospectivo que evaluó el NGAL como marcador de lesión renal en perros, la relación NGAL y creatinina (UNCR) fue mayor en perros con insuficiencia renal aguda, en comparación con otras enfermedades del tracto urinario, a pesar de ser un marcador muy sensible y temprano para detectar lesión renal, la especificidad de NGAL es cuestionable, ya que se origina en múltiples tejidos, así como de neutrófilos y por lo tanto puede aumentar durante la inflamación y otros procesos de enfermedad acompañados de reclutamiento de neutrófilos. De manera fisiológica normal se expresa en bajas concentraciones, pero en caso de daño en el epitelio tubular renal, aumenta su expresión, la cual puede ser determinada mediante muestra de sangre y orina. Las concentraciones de esta proteína en orina son elevadas tanto en pacientes con ERC o en pacientes con daño renal agudo, pero las de estos últimos son significativamente más altas, ayudando así a diferenciar entre un Daño renal agudo de uno crónico.

Sin embargo, debido a que está relacionada con los neutrófilos, esta proteína se ve aumentada cuando se trata de infecciones renales del tipo séptico más que con el tipo no séptico, lo que le quita especificidad para detectar todos los tipos de daños renales, aun sin infección bacteriana. Actualmente existen kits comerciales para calcular el uNGAL (NGAL urinario) o bien el pNGAL (NGAL plasmático). En condiciones estables, las concentraciones de plasma y orina son de alrededor de 20ng/ml. Este marcador se eleva a las 2-4h de producido el daño renal, por lo que es muy necesario tener en cuenta este tiempo.

Cystatina C:

La cistatina C (Cys-C) es una proteína que se elimina exclusivamente por medio de filtración glomerular, por lo que se convierte en un marcador endógeno de gran valor a la hora de diagnosticar daño renal. Aproximadamente el 99% de la Cys-C filtrada es reabsorbida por el epitelio tubular, sin embargo, las células epiteliales tubulares catabolizan lo reabsorbido, por lo que la Cys-C, no vuelve a circular, por consiguiente, en ausencia de daño tubular, no es secretada por las células tubulares y por lo tanto no es detectable en la orina de sujetos sanos. El aumento de los valores urinarios de Cys-C durante una enfermedad renal refleja la disminución de la reabsorción a nivel de los túbulos proximales, la presencia este marcador en orina es más precoz y sensible para daño renal (apareciendo en orina 12-24h después del daño) comparado con la Cys-C plasmática. Sin embargo, la concentración de esta última se correlaciona principalmente con la TFG, incluso en un rango en el que la creatina no es capaz de detectar cambios tempranos en la TFG (60-90ml/min).

En otros estudios se ha evidenciado que la cistatina C es superior a la creatinina, con respecto a su sensibilidad diagnóstica, dado que presenta una variación más baja en los resultados expuestos, puesto que es independiente de la edad, el sexo, la masa muscular y la inflamación, por contraparte la Cys-C se puede elevar en diferentes tumores como el melanoma metastásico, mieloma múltiple y el cáncer colorrectal.

KIM-1:

Es una glucoproteína de membrana celular tipo 1, que no se expresa en el tejido normal del riñón, ni en los fluidos como la orina, pero tiene expresión significativa en el túbulo proximal posterior a una lesión isquémica o toxicidad. Su primer hallazgo se detectó después de 24-48h en el túbulo proximal del riñón en el estado de post isquemia en ratas, mientras que los niveles de creatinina sérica (evaluados en estas mismas ratas) no aumentaron hasta pasados 3 días y medio aproximadamente. Estos parámetros han facilitado la identificación de la KIM1 como biomarcador

apropiado en lesión renal derivada de toxicidad, especialmente de tipo farmacológico, por lo que podrían ser un buen indicador para el tratamiento de medicamentos nefrotóxicos. KIM-1 participa en el proceso de regeneración tras el daño epitelial, y en la eliminación de células muertas en la luz tubular. La pérdida del ribete en cepillo de las células tubulares en el daño renal incluye al dominio extracelular de KIM-1, con el consiguiente incremento de su concentración en la orina, en pocas palabras la concentración urinaria de KIM-1 se ha propuesto como un biomarcador de daño tubular proximal.

Otro tipo de estudios que no son como tal Biomarcadores y hay algunos estudios reportados al respecto, es la determinación de uromodulina en sangre. Se determino la concentración sérica de esta proteína por medio de ensayos de ELISA, donde los resultados revelaron que las concentraciones fueron significativamente más bajas en grupos de pacientes que ya previamente estaban diagnosticados con ERC, lo cual puede tener una ventaja a la hora de la detección de la ERC en etapas tempranas. (DV. (2023))

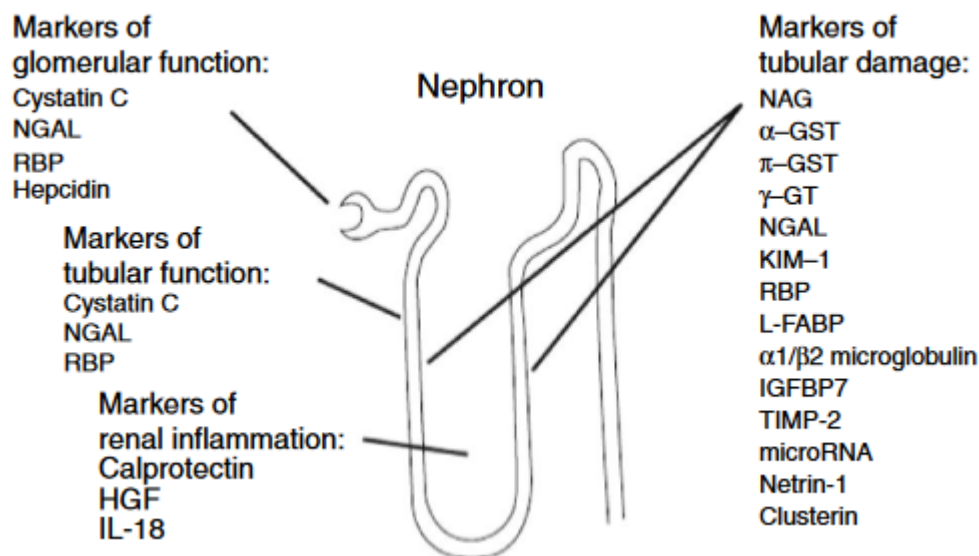


Figura 3. Origen de los biomarcadores de lesión renal.

Hipótesis u objetivos

Objetivos: Este trabajo, tiene como objetivo dar a conocer cuáles son los nuevos marcadores para enfermedad renal, ya sea crónica o aguda, tanto en gatos como en perros, a través de una revisión bibliográfica de diversas fuentes confiables, para poder diagnosticar de manera oportuna a los pacientes e iniciar el tratamiento o control correspondientes de dicha patología, mejorando las estadísticas y la calidad de vida de los animales de compañía.

Material y métodos

Debido a que este trabajo es una investigación del tipo documental y no de experimentación es necesario recalcar que el material y métodos a ocupar va a ser muy robusto.

Con respecto a los objetivos planteados y el tema de la investigación, es necesario determinar las bases de datos de donde se va a recabar la información para poder llevar a cabo un correcto desempeño de la Medicina de Laboratorio Basada en la Evidencia, es por eso que Artículos oficiales, revistas de medicina ya sea humana o veterinaria, así como paginas oficiales con datos estadísticos, e inclusive algunos con fines comerciales (como páginas de productos médicos, o reactivos para pruebas de laboratorio) son los más recomendables para obtener la información, y sobre todo, en este caso que se trata de patologías renales, siempre ir de la mano con la International Renal Interest Society, de donde se obtuvo la información más reciente, actualizada en 2022, aquí se encontraron todos los biomarcadores renales en investigación y con buenas perspectivas de desarrollo y aplicación a nivel de diagnóstico.

Los criterios de inclusión que se pueden considerar serian justamente el tipo de información recaba, la confiabilidad y veracidad de estas, siempre teniendo una buena base de datos, reconocida y con buenas referencias. De igual modo es muy importante conocer los valores de referencia o rangos normales utilizados y dados por el laboratorio, con motivo que nos va a permitir dar una correcta interpretación de los resultados y a su vez un correcto diagnóstico de laboratorio y un diagnóstico final. En el diagrama 1 se puede apreciar cuales son los pasos que seguir para poder llegar a la mejor decisión en beneficio del paciente y de su propietario, siempre bien fundamentado e informado.

Por otro lado, ya un poco más enfocado a la implementación de estos biomarcadores, se sugiere definir bien el tipo de prueba a realizar y por consiguiente el tipo de muestra, para el caso de estos estudios de laboratorio se pueden determinar en muestra de suero (tubos del sistema al vacío con tapón rojo) o bien muestra de orina, siempre teniendo en cuenta que estudio se va a realizar y cuál es la finalidad de este.

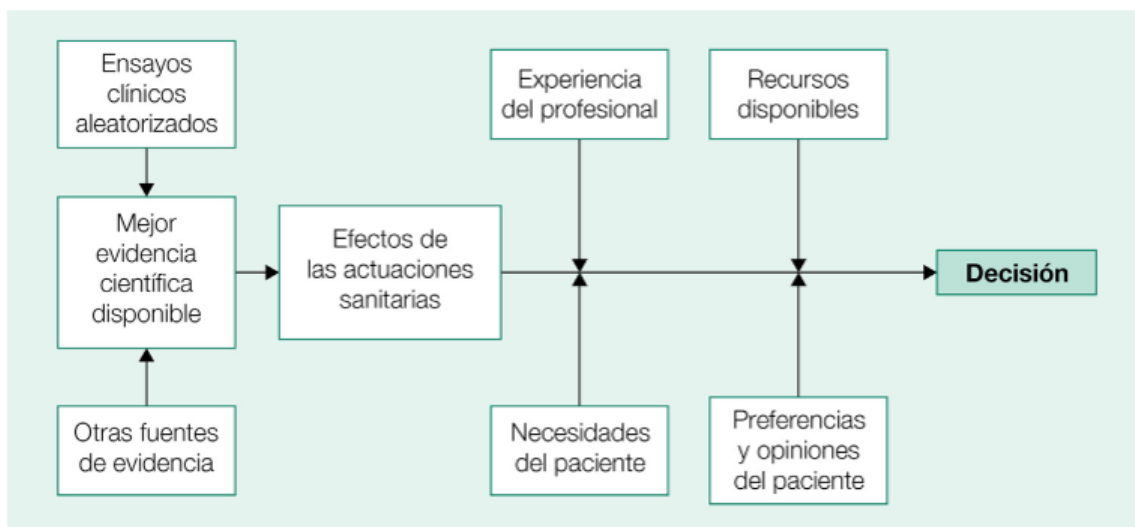


Diagrama 1 Secuencia de pasos con respecto a la MLBE

Resultados

Los resultados para este tipo de investigación se pueden observar propiamente en el marco teórico, en este caso, se optó por la realización de una tabla, donde se van a poder observar los tipos de biomarcadores de nueva generación que tienen una buena perspectiva a futuro así como las ventajas y las desventajas de cada uno de ellos esto con la finalidad de que el médico veterinario pueda tener una mejor toma de decisiones al momento de solicitar y mandar a hacer algún tipo de prueba de laboratorio, pudiendo, en consecuencia determinar el tipo de muestra que se le va a solicitar al paciente.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de los biomarcadores utilizados para la evaluación de la función renal

Biomarcador utilizado	Ventajas	Desventajas o limitaciones
Creatinina	Su concentración en suero es inversamente proporcional a la TFG. Se utiliza como estándar de oro	Alta variabilidad entre razas Se altera por masa muscular, hidratación. Sus niveles se elevan hasta el 75% de daño renal
NGAL	Marcador muy sensible Puede detectar la lesión renal en etapas tempranas	Pueden aumentar su concentración también en infecciones del tracto urinario, no solo a nivel renal

SDMA	Es un marcador de filtración No esta influenciado por masa muscular	No es exclusiva para riñón, también aumenta en hipertensión, hepatitis, glaucoma, hipertiroidismo, etc.
RBP	Altas concentraciones indica daño en los túbulos proximales Marcador temprano para daño renal agudo	Baja especificidad. Se ve afectado por factores extrarrenales, principalmente de origen hepático
KIM-1	Expresión significativa en el túbulo proximal posterior No se expresa en animales sanos	Utilizado únicamente como medido de nefrotoxicidad, es decir como monitoreo de medicamentos
Cystatina C	Se elimina exclusivamente mediante filtración glomerular, Excelente marcador endógeno de gran valor a la hora de diagnosticar daño renal	Su concentración puede aumentar en melanoma metastásico, cáncer colorrectal y mieloma múltiple

Discusión

Tal y como se ha ido comentado a lo largo de este trabajo, a grandes rasgos, existen 2 tipos de patologías con respecto al daño renal, la primera de ellas es aguda la cual representa un daño activo y de progresión rápida y la otra es la enfermedad renal crónica, los cuales son daños lentos, pero de manera progresiva. Recientemente se ha sugerido que ambas patologías no son entidades separas, ya que están condicionadas por factores similares, y a su vez se impactan mutuamente, es decir, la insuficiencia renal aguda es un factor de riesgo o predisponente para la enfermedad renal crónica y viceversa, (Cowgill et al., 2016), en este caso la variación con respecto a las determinaciones de laboratorio, serian que el aumento de concentraciones de los biomarcadores mencionados pueden dar indicio u orientación que se trata de una insuficiencia del tipo agudo a una crónica debido a la velocidad de progresión de la enfermedad. Todo esto

repercute al momento de determinar las concentraciones de los biomarcadores, ya que a pesar de que faltan estudios prospectivos que evalúen críticamente la sensibilidad y especificidad de estos, para predecir la progresión en pacientes con ERC. La documentación del daño renal activo en curso en pacientes con ERC podría sugerir que la fisiopatología tanto de la insuficiencia renal crónica como aguda comparten más características de las reconocidas actualmente, y la principal diferencia entre ellos la tasa de progresión de la enfermedad.

En 2023 la IRIS recalco la importancia de la investigación y el descubrimiento de nuevos marcadores de lesión renal, aunado a ello, marcadores que ya han sido utilizados como la tasa de filtración glomerular y la concentración de proteínas en orina se deben de seguir considerando. Todo esto conlleva un enorme reto y un gran avance en la tecnología, tanto para médicos del área humana, como de la medicina veterinaria, son de suma importancia para el correcto tratamiento, o control de la enfermedad, para el diagnóstico oportuno, y así poder localizar al paciente en la etapa de pronóstico favorable, debido a que este tipo de patologías suelen progresar en un lapso de semanas (episodio agudo) o mantenerse constante durante meses (crónico) pero en la mayor parte de las veces desencadenándose en la muerte o eutanasia del animal en cuestión.

La importancia de la utilización de los biomarcadores, tal como se vio este trabajo, radica en las patologías del sistema renal siendo las más frecuentes tanto en perros como en gatos, sin embargo las determinaciones de laboratorio, implementadas en la actualidad como lo son la concentración de urea y creatinina sérica, y la determinación de la tasa de filtración glomerular con estos analitos, no ha sido del todo satisfactorias debido a la progresión de la enfermedad observada en la mayor parte de los casos; es por ello que surge la necesidad de implementar nuevos tipos de marcadores que ayuden a determinar cuál es el tipo de patología que se tiene, la severidad y el pronóstico del paciente, también se debe de tener en cuenta la sensibilidad y especificidad de estos biomarcadores, sin embargo, esto como se puede observar en la tabla 1, no es del todo posible ya que a pesar de las grandes ventajas que representa cada uno de ellos, también tienen limitaciones, por eso en la mayor parte de las veces es recomendable no utilizar únicamente un tipo de determinación, sino hacer un conjunto de biomarcadores, por ejemplo se pueden utilizar el SDMA en conjunto con el NGAL para poder determinar si se trata realmente de una infección en el aparato urinario o de un daño a nivel tubular renal, esto se puede implementar con los diferentes tipos de biomarcadores que existen y los consultados en este trabajo, apoyándose con la tabla de ventajas y desventajas realizada y colocada en el apartado de resultados.

Todo esto con el objetivo de preservar la función renal en los animales, mejorar la calidad de vida de los mismos, dar un pronóstico favorable tanto a nuestro paciente como al propietario, y seguir en la búsqueda de cual o cuales marcadores son los mejores para poder llegar al diagnóstico precoz de la patología.

Conclusiones

Si bien la investigación de los biomarcadores para enfermedades renales ha sido un tema muy importante en los últimos años, siendo reportados algunos de esta bibliografía desde el 2012. Esta investigación sigue siendo un tema de vanguardia, por ello es necesario estar consultando periódicamente las actualizaciones de estos temas en las páginas oficiales sobre todo en la International Renal Interest Society (IRIS).

Para finalizar, no está de más recalcar que la utilidad de estos biomarcadores es muy importante en el ámbito de la medicina veterinaria con un enfoque de la medicina de laboratorio basada en la evidencia, con el objetivo de establecer un diagnóstico oportuno, precoz, que posea una alta sensibilidad especificidad, que nos indiquen el grado de la lesión, la localización de la misma en el aparato renal, pudiendo así dar un control y posteriormente un tratamiento para la patología y mejorar la salud y calidad de vida de los pacientes.

Bibliografía

AIDEXX (2023) El primer indicaro que vale la pena probar Recuperado de: <https://www.idexx.es/es/veterinary/reference-laboratories/sdma/why-sdma-matters/>

Cortadellas, O. & Fernández, J. (2012) "Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad renal crónica (ERC) en el perro y el gato. Parte 1: Evaluación del paciente con ERC" Clínica Veterinaria de Pequeños Animales 32 (4) 215-223. Recuperado de: <https://ddd.uab.cat/pub/artpub/2012/130278/clivetpeganiv32n4p215.pdf>

Cowgill, L.D., Polzin, D.J., Elliott, J., Nabity, M.B., Segev, G., Grauer, G.F., Brown, S., Langston, C., van Dongen, A.M., 2016. Is Progressive Chronic Kidney Disease a Slow Acute Kidney Injury? The Veterinary clinics of North America. Small animal practice 46, 995-1013.

Diario Veterinario (2023) "Nuevo marcador para detectar insuficiencia renal canina de forma temprana" Recuperado de: <https://www.diarioveterinario.com/t/4062062/nuevo-marcador-detectar-insuficiencia-renal-canina-forma-temprana#>

Elliot, J. & Sargent, H. (2020) “Detección de la enfermedad renal crónica precoz en el gato” Royal Canin. Recuperado de: <https://vetfocus.royalcanin.com/es/cientifico/detecci%C3%B3n-de-la-enfermedad-renal-cr%C3%B3nica-precoz-en-el-gato>

International Renal Interest Society (2022) “Biomarkers of urinary tract disease: potential utilities” Recueprado de: http://www.iris-kidney.com/education/education/renal_biomarkers.html

Moscoso, G., Johoana, M. et.al. (2022) Cistatina C como biomarcador Gold estándar para el diagnóstico de problemas renales agudos en caninos. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 16(2), 76-102 Recuperado de: <https://doi.org/10.21615/cesmvz.6439>

Ostermeier, N. (2024) “Entender los marcadores renales: como obtener una imagen completa de la salud renal en las mascotas” Recuperado de: <https://www.thevetiverse.com/es/ultimo/entender-los-marcadores-renales-como-obtener-una-imagen-completa-de-la-salud-renal-en-mascotas/>

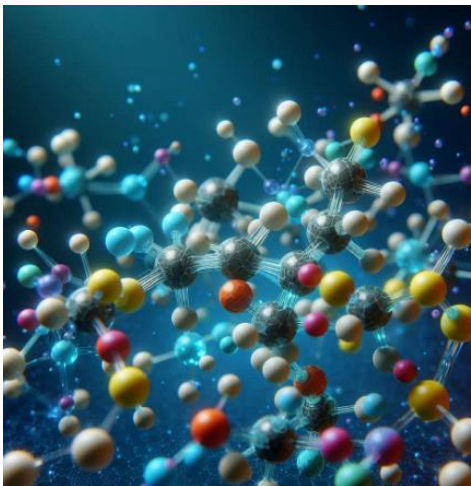
Sejias, M., Baccino, C. et. al. (2014) “Definición y biomarcadores de daño renal agudo: Nuevas perspectivas” *Medicina Intensiva*. 38 (6) 376-385. Recuperado de: [10.1016/j.medin.2013.09.001](https://doi.org/10.1016/j.medin.2013.09.001)

Villagra D. (2017) “Aplicación de la imagenología a la clínica del aparato urogenital canino. Tesis de pregrado”. Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

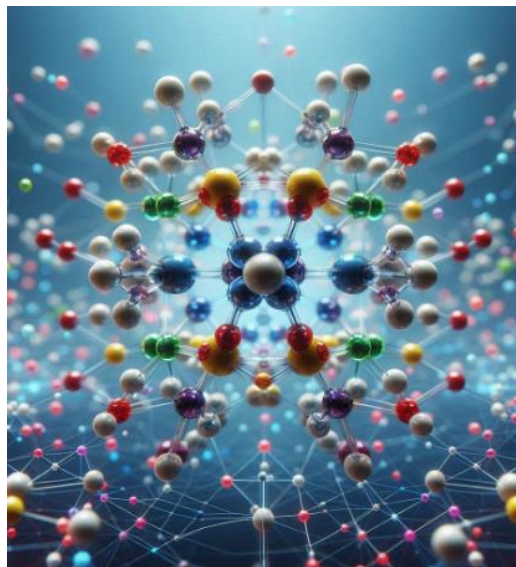
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DIPLOMADO
MEDICINA DE LABORATORIO BASADO EN LA EVIDENCIA
PROFESORES
GRACIELA CASTAÑEDA ACEVES
GUILLERMO VALDIVIA ANDA**

**ALUMNO
ZAVALA DÍAZ VÍCTOR**



CORRELACION ENTRE LA CREATININA Y EL SDMA EN CANINOS



INDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
a) BREVE REPASO DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA RENAL.....	5
ANTECEDENTES.....	8
OBJETIVOS.....	14
MATERIAL Y METODOS.....	14
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIONES.....	22
BIBLIOGRAFÍA.....	23,24

INTRODUCCIÓN

Cada día, los glomérulos renales filtran un enorme volumen de agua plasmática y los túbulos deben reabsorber la mayor parte de esta agua junto con los solutos vitales, de modo que solo un pequeño volumen de agua y solutos innecesarios se excretan en forma de orina. (*Di Bartola, 2012*)

Por ejemplo, un perro normal de 10 kg puede tener una tasa de filtración glomerular de 4ml/min/día. En el transcurso de un día, este perro filtraría 57.6 L de agua plasmática en sus riñones. Si el 60% del peso corporal es agua, este volumen representa casi 10 veces el agua corporal total del perro. El mismo perro puede tener una diuresis de 33ml/kg/día. Así más del 99% del agua plasmática filtrada por los glomérulos es reabsorbida por los túbulos. Los túbulos proximales y las asas de Henle reabsorben aproximadamente el 85% del agua filtrada en los solutos, mientras que los conductos colectores ajustan la composición final de la orina para compensar las fluctuaciones en la ingesta y evitar cambios en el volumen y la composición de los fluidos corporales. (*Di Bartola, 2012*)

Cuando existe una alteración en la filtración glomerular o en la reabsorción tubular de agua y de solutos vitales y excreción de solutos innecesarios para el organismo por parte de la nefrona se dice que existe insuficiencia renal, esta condición puede ser aguda o crónica y afecta significativamente la salud y el bienestar de los perros.

El fallo renal agudo (lesión renal aguda) en perros, es una condición grave que se caracteriza por una pérdida rápida y repentina de la función renal. Esta situación puede ser potencialmente mortal si no se trata de manera oportuna.

El fallo renal crónico (enfermedad renal crónica) es una de las enfermedades que afectan a los perros mayores, aunque también puede afectar a perros de mediana edad y mínimamente en perros jóvenes. Se caracteriza por una pérdida progresiva e irreversible de la función renal. Las causas pueden incluir enfermedades congénitas, infecciones, toxinas, y enfermedades sistémicas como la hipertensión. Los signos clínicos pueden variar desde letargo, anorexia, vómitos, diarrea, pérdida de peso, poliuria y polidipsia entre otros.

Para la detección y manejo de la enfermedad renal en perros, se utilizan varios biomarcadores como la Creatinina sérica, SDMA, Cistatina C, Proteinuria, NGAL, NAG, KIM-1. (*P. Charlo et al 2020*)

Estos biomarcadores pueden proporcionar información valiosa sobre la función renal y ayudar a tomar decisiones mejor fundamentadas sobre el tratamiento, manejo y pronóstico de la enfermedad renal.

BREVE REPASO DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA RENAL

Los riñones del perro macroscópicamente son de color marrón rojizo y contornos lisos que se localizan en el techo de la cavidad abdominal a cada lado de la columna vertebral junto a las vertebrae lumbares en posición retroperitoneal. Tienen forma de habichuela y en el centro de su borde medial cóncavo aparece una depresión denominada hilio por donde entran y salen los vasos renales, nervios y uréteres. El riñón derecho se sitúa mas cranealmente que el riñón izquierdo. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

Los riñones son los órganos más irrigados del organismo, tiene un flujo sanguíneo que equivale al 20% del gasto cardiaco. La irrigación es mas rica en la corteza que en la medula alcanzando el 80% y el 20% respectivamente. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

El parénquima renal está formado por la corteza, de coloración rojiza o marrón y de aspecto granulosos por la presencia de los corpúsculos renales y los túbulos contorneados; y la medula, normalmente más pálida y de aspecto estriado por la presencia de las asas de Henle y los túbulos colectores. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

La médula renal se organiza en secciones triangulares denominadas pirámides renales, delimitada por los vasos interlobulares, cuyo vértice (papilas renales) se fusionan en la cresta central común, íntimamente asociada con una porción interna expandida de los uréteres (pelvis renal) que se localiza en el seno renal en la región del hilio. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

La unidad funcional del riñón es la nefrona. El número de nefronas varía entre especies. En promedio un gato tendrá alrededor de 200 000 nefronas por riñón y un perro tendrá en promedio 700 000 nefronas por riñón. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

Las nefronas de los mamíferos siguen el modelo básico y está compuesto por un corpúsculo renal (formado por el glomérulo y la cápsula glomerular), los túbulos (contorneado proximal, asa de Henle y contorneado distal) y los túbulos colectores, que recogen el filtrado de varias nefronas y desembocan en los conductos papilares. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

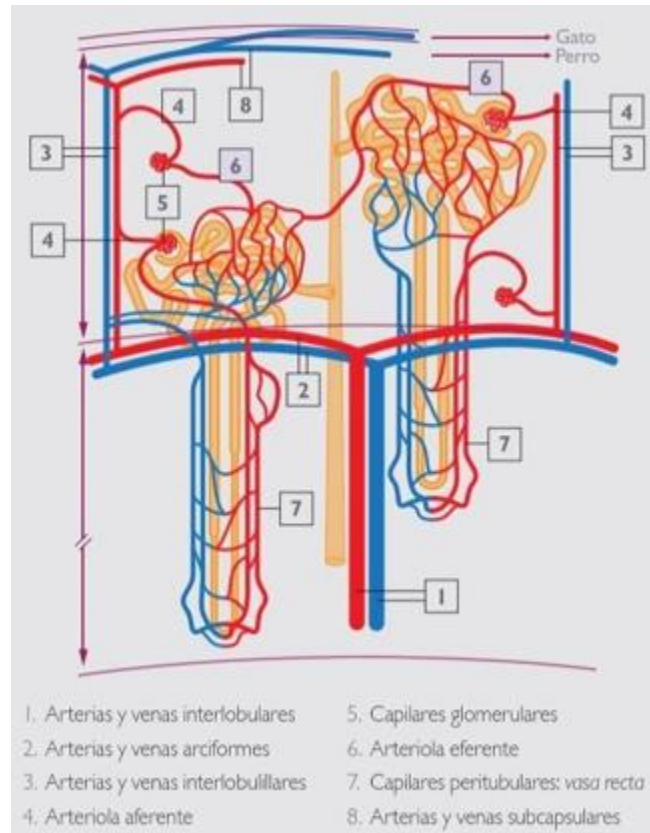
Se identifican 2 tipos de nefronas según la localización de sus glomérulos y la profundidad de penetración de sus asas de Henle en la medula:

- Nefronas corticales: aquellas que tienen los glomérulos en la zona externa o media de la corteza y cuyas asas de Henle se extienden hasta la unión de la corteza con la médula o ligeramente en la zona mas externa de la medula.
- Nefronas yuxtamedulares: son aquellas nefronas que tienen los glomérulos en la zona próxima a la médula y cuyas asas de Henle se extienden bien profundas, casi alcanzando la pelvis renal. Estas nefronas son las encargadas de mantener el gradiente osmótico entre la parte más externa e interna de la médula. El porcentaje de este tipo de nefronas varía entre especies, pero en el gato son casi el 100%. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)



Anatomía del riñón

(Cortadellas 2021)



La irrigación renal corre a cargo de la arteria renal que es una rama directa de la aorta. En la mayoría de los casos, antes de entrara en el hilio la arteria renal se divide en 2 ramas, dorsal y ventral. En el gato pequeñas ramificaciones adicionales de la arteria renal viajan a lo largo de la periferia del riñón para irrigar la superficie cortical y la capsula renal. (Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)

Una vez penetran el hilio, la ramificación posterior da lugar a las arterias interlobulares que se introducen en el parénquima renal. Las arterias arciformes (arcuatas) son ramas de las arterias interlobulares en la unión cortico medular. Las arterias interlobulillares surgen de las arterias arciformes y se extienden radialmente a través de la corteza hacia la superficie del riñón, algunas extendiéndose dentro de la cápsula. Las arterias interlobulillares emiten arteriolas aferentes que cuando llegan al corpúsculo renal se ramifican y forman la red de capilares glomerulares; Estos capilares glomerulares se vuelven a anastomosar formando la arteriola eferente, que alimenta una segunda red capilar que rodea los túbulos renales. El riñón tiene, tal como se describe, dos redes capilares conectadas por una arteriola, y por lo tanto un sistema porta. (Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)

El glomérulo constituye el primer lecho capilar. Las arteriolas eferentes de los glomérulos localizados periféricamente en la corteza suministran capilares peritubulares alrededor de los túbulos corticales mientras que las arteriolas eferentes de los glomérulos yuxtamedulares, suministran capilares peritubulares alrededor de los túbulos medulares. En la médula, la red capilar peritubular se forma entre las arteriolas eferentes descendentes y las vénulas que remontan hacia la corteza. Estos vasos más o menos rectos y sus

conexiones se denominan *vasa recta*. Las venas renales son generalmente satélites de las arterias. Las vénulas surgen de los lechos capilares que rodean los túbulos corticales y medulares. Las venas viajan con ramas arteriales, vaciando en venas interlobulillares, arciformes, interlobulares y finalmente renales. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

Un sistema venoso subcapsular drena la cápsula renal. En el gato, estas venas (*venas capsulares*) se localizan dentro o inmediatamente debajo de la cápsula y se continúan alrededor de la periferia del riñón hasta la región ciliar donde drenan directamente a la vena renal. En el perro, las venas son más profundas dentro de la corteza y se corresponden con las venas estrelladas que drenan en la corteza y finalmente en la vena renal, que llevan la sangre a la vena cava caudal. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

Los riñones tienen diferentes funciones para mantener la homeostasis del cuerpo entre ellas se encuentra

- Filtración de sangre
 - Regulación del equilibrio de líquidos y electrolitos
 - Regulación de la presión arterial
 - Regulación del equilibrio ácido base
 - Producción de hormonas
 1. eritropoyetina
 2. calcitriol
 - Eliminación de desechos metabólicos
- (*Torres 2023*)

(*Cortadellas 2021*)



Proceso
de formación
de la orina

Como hemos leído el riñón tiene varias funciones que son importantes para que el organismo funcione adecuadamente; En este trabajo escrito solo hablaremos bajo el contexto de la fisiología de excreción renal y sus biomarcadores Creatinina y SDMA.

ANTECEDENTES

El uso de la creatinina como marcador de la función renal comenzó a desarrollarse a principios del siglo XX. En 1920, el nefrólogo estadounidense Homer Smith fue uno de los primeros en proponer la creatinina como un indicador de la tasa de filtración glomerular (TFG), debido a su producción constante y eliminación casi exclusiva por los riñones. *(Leguizamón 2014)*

En la década de los 50s y 60s la medición de creatinina sérica se convirtió en una práctica común en la medicina clínica para evaluar la función renal. *(Seijas et al 2014)*

En los años 70s se desarrollaron formulas para estimar la TFG a partir de los niveles de creatinina sérica, como la fórmula de Cockcroft-Gault. *(Seijas et al 2014)*

La entrada al nuevo siglo trajo consigo la ecuación de MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) y, mas recientemente, la ecuación CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) mejoraron la precisión de las estimaciones de la TFG basadas en creatinina. *(Seijas et al. 2014)*

La creatinina sérica ha sido durante décadas un biomarcador estándar para evaluar el funcionamiento renal pero no es un marcador sensible para la detección temprana de la enfermedad renal. *(IDEXX)*

La Dimetil arginina simétrica (SDMA) se identificó por primera vez en 1970 como un producto de la metilación del aminoácido arginina. *(IDEXX)*

En 2006 un meta-análisis demostró una alta correlación entre el SDMA y las pruebas de función renal en humanos. *(IDEXX)*

En 2008, se publico uno de los primeros estudios sobre la SDMA en medicina veterinaria, específicamente en gatos con azoemia. *(IDEXX)*

La sensibilidad de la SDMA detecta cambios en la función renal mucho antes que la creatinina, y a diferencia de esta no se ve influenciada por la masa muscular, lo que la hace más confiable en perros de diferentes tamaños y composiciones corporales. *(IDEXX)*

La SDMA se utiliza tanto para la detección temprana de la enfermedad renal como para monitoreo de la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. *(IDEXX)*

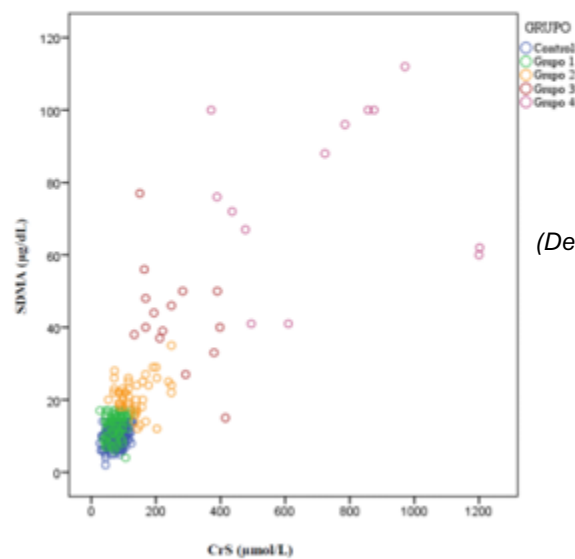
Estudios clínicos han demostrado que la SDMA es un indicador mas sensible de la ERC en estadios tempranos en perros y gatos en comparación con la creatinina. La SDMA proporciona información adicional cuando se utiliza junto con la creatinina sérica. *(IDEXX)*

Hay una correlación significativa entre los niveles de SDMA y creatinina, pero la SDMA tiende a elevarse antes que la creatinina en caso de disfunción renal. *(IDEXX)*

En resumen, la SDMA es un biomarcador mas sensible y específico que la creatinina para la detección temprana de la enfermedad renal en perros, lo que permite intervenciones oportunas y un mejor manejo de la enfermedad. *(IDEXX)*

En un estudio, descriptivo y prospectivo realizado en el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México donde se evaluaron 388 perros los cuales se dividieron en 5 grupos se encontraron los siguientes resultados correspondientes a la creatinina y la SDMA. (Del Angel-Caraza et al. 2022)

La relación entre las variables CrS y SDMA en los grupos de estudio se muestra en el diagrama de dispersión (Figura 1). Se observó incremento de ambos biomarcadores con relación a la gravedad de la enfermedad (GC: $r=0.23$, $p<0.001$, pERC: $r=0.69$, $p<0.001$).



(Del Angel-Caraza et al. 2022)

Figura 1. Diagrama de dispersión de CrS ($\mu\text{mol/L}$) y SDMA ($\mu\text{g/dL}$) en los grupos de estudio.

En otro estudio realizado por IDEXX se tuvieron en cuenta a todos los paneles bioquímicos de perros y gatos de Estados Unidos enviados a laboratorios de referencia a IDEXX en un periodo de inscripción de 22 meses desde Julio del 2015. Los animales debían tener entre 1 y 25 años y debían contar con al menos 3 paneles bioquímicos incluyendo la prueba IDEXX SDMA realizado durante el periodo de inscripción.

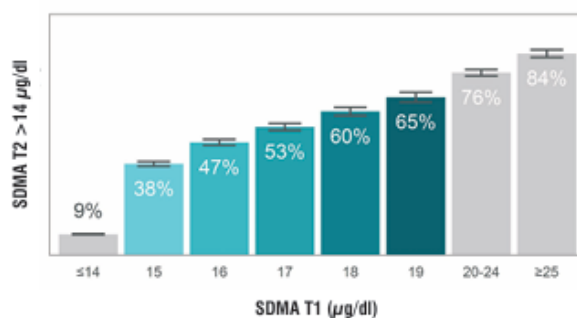
Con el fin de limitar la inclusión de pacientes con un deterioro renal presente, el primer resultado (T0) tenía que estar dentro del intervalo de referencia (IR) de SDMA y creatinina ($\text{SDMA} \leq 14\mu\text{g/dl}$ y creatinina $\leq 2,3\text{ mg/dl}$ en gatos y $\leq 1,5\text{ mg/dl}$ en perros). El segundo resultado (T1) no tenía restricciones de valor. Sólo había que seguir un resultado bioquímico acorde con los requisitos de (T0). El tercer resultado (T2) tenía que producirse entre 14 días y 12 meses después del T1. Este resultado y todos los siguientes resultados bioquímicos se emplearon para evaluar la probabilidad de un futuro aumento de las concentraciones de

SDMA, la concordancia de la creatinina y para examinar los plazos de seguimiento. Estudio fueron de interés los 16,454 gatos y 16,523 perros en los que las concentraciones de SDMA T1 superaban el límite máximo de IR (14 µg/dl) Y la comparación de probabilidad de un aumento de la concentración de SDMA en la siguiente prueba con la de los 43,764 gatos y 112,999 perros, cuya concentración de SDMA T1 estaba dentro del IR.

La probabilidad de un aumento de la concentración de SDMA en la siguiente prueba se calculó en forma de porcentaje de concentraciones de SDMA en T2 sobre el IR y se presentaron con intervalos de un 95% de confianza calculados mediante el método exacto binomial. Empleo estimador de a Allen Johansson para las intensidades de transición acumulativas con el fin de calcular la probabilidad de que los resultados de creatinina superaran el IR en cualquier momento tras un aumento de la SDMA. Se emplearon pruebas de equivalencia para comparar las probabilidades de persistencia de gatos y perros con concentraciones de SDMA T1 de 15-19 µg/dl con pruebas de seguimiento en 1 mes con aquéllos con seguimiento entre 1 y 6 meses y aquéllos entre 6 y 12 meses. Se empleó un umbral de equivalencia de $\pm 5\%$ de probabilidad de aumento persistente de la concentración de SDMA en el seguimiento T2 con un nivel de significación del 5% ($P < 0.05$) tras ajustar múltiples comparaciones mediante el método de Holm-Bonferroni.

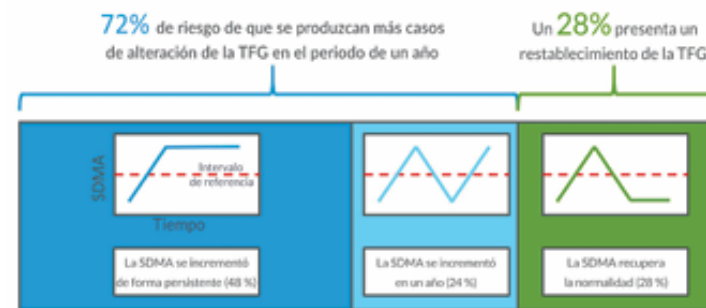
Este estudio estaba limitado por la dependencia de los datos recogidos de forma retrospectiva, es decir, los gatos y perros del estudio tenían diagnósticos, tratamientos y resultados desconocidos. Además, el requisito del estudio de que los animales se hubieran sometido a 3 o más paneles bioquímicos puede haber distorsionado la muestra en favor de los animales que recibieron más atención veterinaria o con un peor estado de salud que aquéllos que no se sometieron a pruebas de diagnóstico regulares. Este estudio también puede haberse visto limitado por el sesgo de supervivencia, puesto que los animales que murieron antes de someterse a 3 paneles bioquímicos no se tuvieron en cuenta. Los datos del estudio no incluyeron animales para los que no se realizaron pruebas de seguimiento con el fin de controlar el aumento de los marcadores renales. El uso de los resultados de las pruebas disponibles significa que los tiempos entre los paneles bioquímicos variaron y que se vieron influenciados por variables confusas y desconocidas y es posible que no representen todas las actividades de seguimiento.

Probabilidad de aumento de la SDMA en el seguimiento por la concentración de SDMA T1



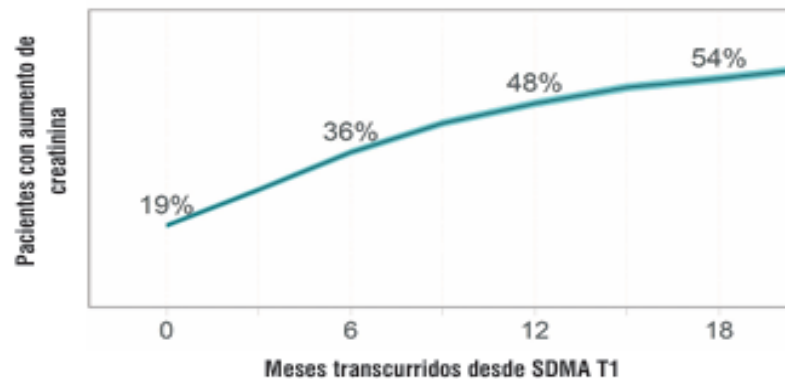
La probabilidad de aumento de la SDMA en el seguimiento aumenta de forma proporcional con la concentración de SDMA T1

Porcentaje de riesgo de aumento de la concentración de SDMA en las pruebas de seguimiento tras una concentración de SDMA T1 ligeramente aumentada



El 72 % de los perros y gatos con un aumento ligero de concentración de SDMA presenta otra concentración de SDMA sobre el IR en el periodo de 1 año

Porcentaje de pacientes con aumento de la creatinina representados en los intervalos de tiempo tras la detección de una concentración elevada de SDMA T1.



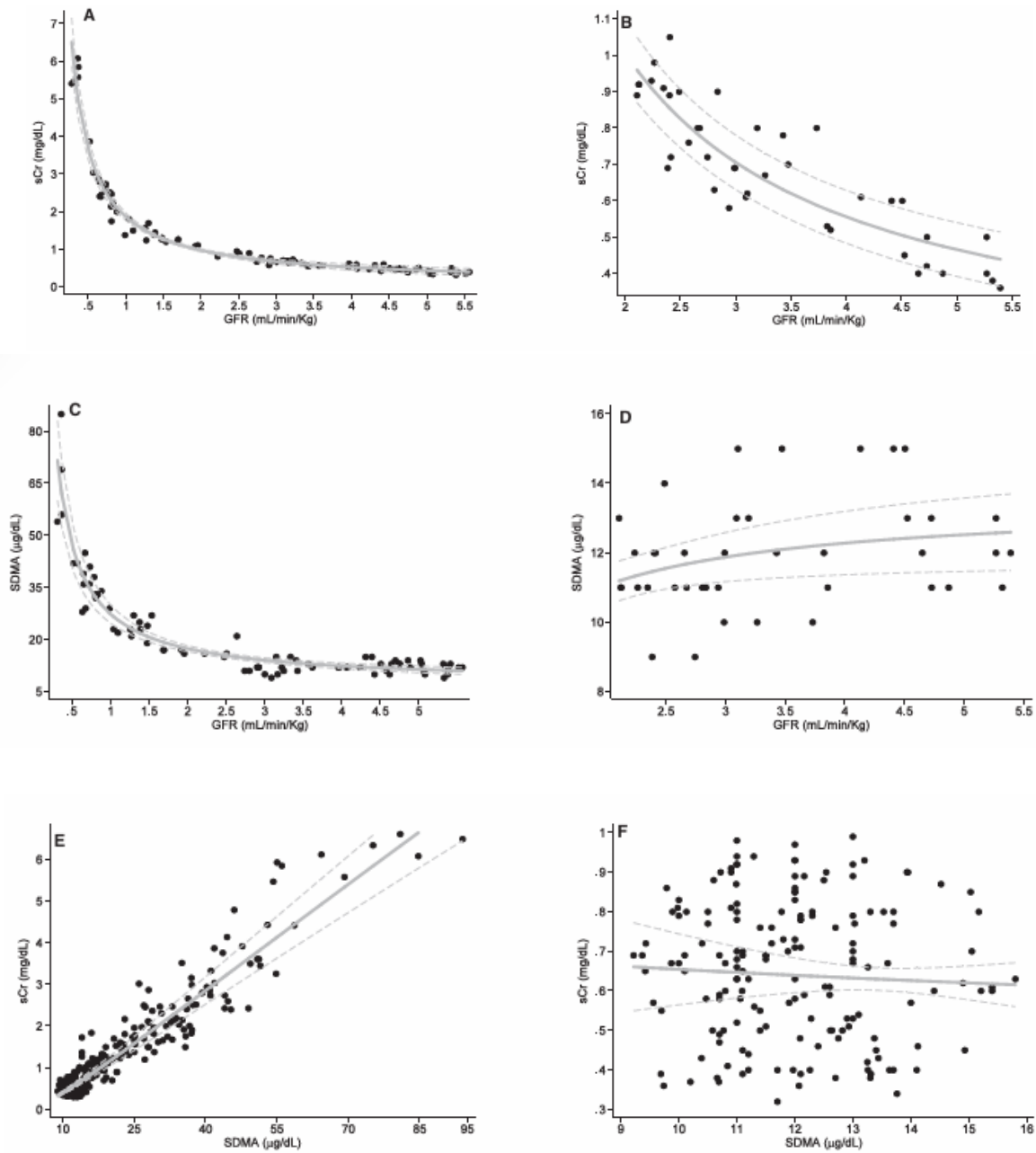
Las concentraciones de SDMA ligeramente elevadas y persistentes suelen preceder a un aumento de la creatinina

Nabity et all. Realizaron un estudio llamado: Validación del ensayo de Dimetil arginina simétrica, Estabilidad y Evaluación como Marcador para la Detección Temprana de la Enfermedad Renal Crónica en Perros

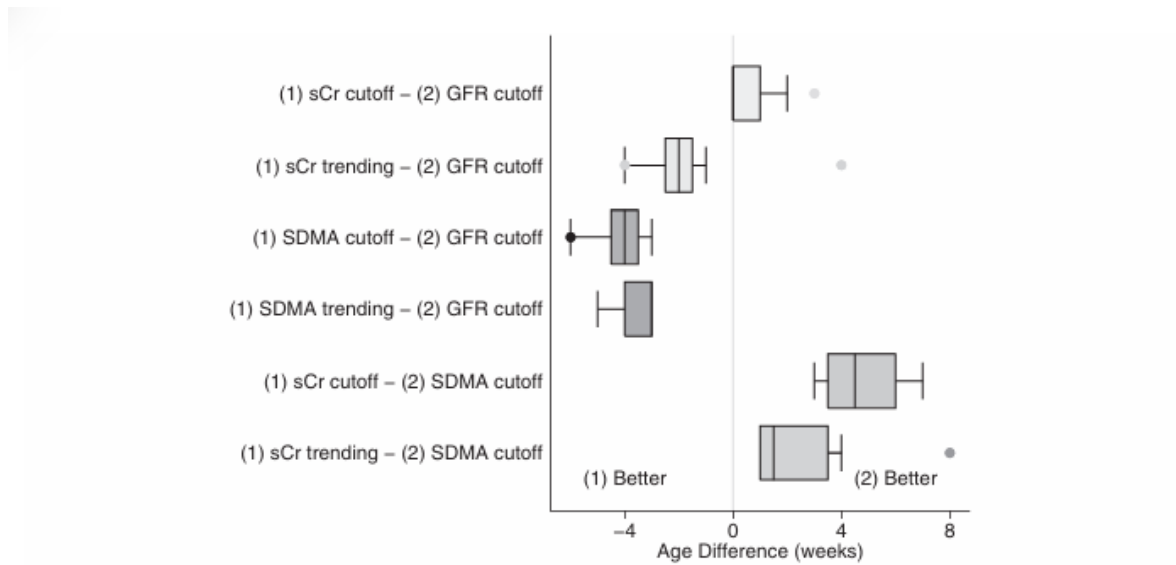
Mediante un estudio prospectivo validando la medición de SDMA utilizando cromatografía líquida-espectrometría de masas, evaluando la estabilidad de SDMA en suero y plasma, y determinando secuencialmente Creatinina sérica (sCr), SDMA y TFG (usando la depuración de iohexol) en perros durante la progresión de la enfermedad desde la fase preclínica hasta la insuficiencia renal terminal. Las correlaciones se determinaron utilizando regresión lineal. Se compararon los puntos de tiempo en los que sCr, SDMA y TFG identificaron la

disminución de la función renal utilizando valores de corte definidos, tendencias en un perro individual y comparación con compañeros de camada no afectados.

Resultados: La dimetilarginina simétrica fue altamente estable en suero y plasma, y el ensayo demostró un excelente rendimiento analítico. En perros no afectados, la SDMA permaneció sin cambios, mientras que, en perros afectados, la SDMA aumentó durante la progresión de la enfermedad, correlacionándose fuertemente con un aumento en la creatinina sérica (sCr) ($r = 0.95$) y una disminución en la TFG ($r = 0.95$). Aunque la tendencia mejoró la sensibilidad de la sCr, la SDMA identificó, en promedio, una disminución de $<20\%$ en la TFG, lo cual fue más temprano que la sCr utilizando cualquier método de comparación.



Correlations of serum creatinine (sCr), SDMA and GFR in dogs affected with X-linked hereditary nephropathy ($n = 8$; graphs A, C, and E) and unaffected littermates ($n = 4$; graphs B, D, and F).



Difference in weeks between comparisons of various methods for the analysis of serum creatinine (sCr), SDMA, and GFR for detecting initial decline in renal function in dogs affected with X-linked hereditary nephropathy ($n = 8$). Age difference was calculated by subtracting the age at which a decrease in renal function was identified by method (2) from that identified by method (1). “(1) Better” indicates that method (1) detected a decline in renal function earlier than method (2); “(2) Better” indicates that method (2) detected this decline earlier than method (1). sCr cutoff: $\text{sCr} \geq 1.2 \text{ mg/dL}$; GFR cutoff: $\text{GFR} < 2 \text{ mL/min/kg}$; SDMA cutoff: $\text{SDMA} \geq 14 \text{ } \mu\text{g/dL}$; sCr and SDMA trending refer to detection of a clinically relevant difference in the rate of change from prior values in an individual dog.

Glomerulonefritis
inmunomediada



(Cortadellas 2021)

OBJETIVOS

- Determinar la correlación que existe entre la creatinina y SDMA en perros con enfermedad renal
- Conocer cual biomarcador es más sensible en etapas tempranas de enfermedad renal
- Conocer la relación que existe entre creatinina y la tasa de filtración glomerular
- Conocer la relación que existe entre SDMA y la tasa de filtración glomerular
- Determinar la relación entre SDMA, Creatinina y TFG

MATERIAL Y METODOS

Material bibliográfico

- Revistas científicas
- Libros
- Paginas web

Método de investigación

- Se aplicó la investigación bibliográfica como parte del método científico; para ello se localizaron documentos relacionados con el tema en específico que se caracteriza por utilizar datos secundarios como fuente de información.

RESULTADOS

1.- Correlación significativa

Un estudio mostró una correlación significativa entre el SDMA y la creatinina ($r=0.794$; $p=0,006$), lo que indica que ambos biomarcadores están relacionados, aunque la SDMA tiende elevarse antes que la creatinina en casos de disfunción renal.

2.- Detección temprana

La SDMA puede detectar la disminución de la tasa de filtración glomerular con una pérdida de sólo el 25 al 40% de la función renal, mientras que la creatinina requiere una pérdida del 75% para mostrar un aumento significativo.

3.- Especificidad y Sensibilidad

La SDMA no se ve influenciada por la masa muscular, lo que la hace más específica y sensible en comparación con la creatinina, especialmente en perros de diferentes tamaños y composiciones corporales.

4.- Monitoreo de la Progresión

En un estudio el 81% de los animales con una SDMA ligeramente elevada de forma persistente tenía la creatinina dentro del intervalo de referencia cuando aumentó la SDMA por primera vez. La mitad de los perros presentaba un aumento de la creatinina al año de presentar aumento de la SDMA persistente.

DISCUSIÓN

Filtración glomerular: En los capilares glomerulares, una porción del agua del plasma es forzada a través de un filtro que tiene tres componentes básicos: las células endoteliales de capilares fenestrados, una membrana basal que yace justo por debajo de las células endoteliales, y los diafragmas de hendidura de filtración formados por células epiteliales que cubren la membrana basal sobre su lado del espacio urinario. (*Goodman and Gillman 2023*)

Los solutos de pequeño tamaño fluyen con el agua filtrada (arrastre de solventes) hacia el espacio urinario (de Bowman), En tanto la barrera de filtración retienen los elementos formes y las macromoléculas. Para cada unidad de nefrona, la filtración glomerular de nefrona única (SNGFR) está en función de la presión hidrostática en los capilares glomerulares (P_{GC}), la presión hidrostática en el espacio de Bowman (que puede considerarse idéntica a la presión de los túbulos proximales P_T), la presión coloidosmótica media en los capilares glomerulares (Π_{GC}), la presión coloidosmótica en los túbulos proximales (Π_{GC}), y el coeficiente de ultrafiltración (K_f), según la ecuación:

$$SNGFR = K_f[(P_{GC}-P_T)-(\Pi_{GC}-\Pi_T)]$$

Si $P_{GC}-P_T$ se define como la diferencia de presión hidráulica transcapilar (ΔP), y si la presión coloidosmótica en los túbulos proximales (Π_T) es insignificante (como suele serlo pues se filtra poca proteína), entonces:

$$SNGFR=K_f(\Delta P- \Pi_{GC})$$

Esta última ecuación expresa de manera sucinta los tres determinantes principales de la filtración glomerular de nefrona única. Sin embargo, cada uno de esos tres determinantes puede ser influido por otras variables. El coeficiente de ultrafiltración (K_f) está determinado por las propiedades fisicoquímicas de la membrana de filtración y por el área de superficie disponible para filtración. La presión hidráulica transcapilar (ΔP) determinada principalmente por la presión arterial y por la proporción de esta última que se transmite hacia los capilares glomerulares. La presión coloidosmótica media en los capilares glomerulares (Π_{GC}) está dada por 2 variables, es decir, concentración de proteína en sangre arterial que entran en el glomérulo, y el flujo sanguíneo de nefrona única (Q_A). Este último influye sobre la Π_{GC} porque, conforme la sangre atraviesa el lecho capilar glomerular, la filtración concentra proteína en los capilares, lo cual hace que la expresión coloidosmótica media en los capilares glomerulares (Π_{GC}) aumenta con la distancia a lo largo del lecho glomerular. Cuando el flujo sanguíneo de nefrona única (Q_A) es alto, este efecto se reduce; sin embargo, cuando es bajo, la Π_{GC} puede incrementarse hasta el grado en que la $\Pi_{GC} = \Delta P$, y la filtración se detiene (situación conocida como equilibrio de filtración).

Medición de la tasa de filtración glomerular GRF o TFG

Considere una sustancia que es filtrada por los glomérulos, pero no es reabsorbida ni secretada por los túbulos. La inulina es un polímero de la fructosa con una masa molecular de 5200 Da. La inulina es una sustancia ideal para medir la tasa de filtración glomerular

(GFR) y su depuración es el estándar de laboratorios para determinar dicha rapidez; pero no se emplea en clínica porque requiere la infusión intravenosa de esta sustancia y no es una prueba de la que se disponga de manera sistemática en la mayor parte de los laboratorios de anatomía patológica clínica. Por otro lado, la creatinina es producida de manera endógena por el organismo y excretada principalmente por filtración glomerular de modo que es posible emplear su depuración para estimar la GFR en el estado estable. (*Di Bartola, 2012*)

Creatinina

En el perro y en el gato la creatinina es filtrada por los glomérulos y no es reabsorbida ni secretada por los túbulos. Los valores de depuración de creatinina endógena en el perro y el gato son de alrededor de 2 a 5 ml/min/kg. (*Di Bartola 2012*)

Entonces podemos utilizar la creatinina tanto plasmática como urinaria para determinar la tasa de filtración glomerular, y en este contexto podemos utilizar otros biomarcadores recientemente descubiertos para determinar si hay lesión y afectación de la función renal.

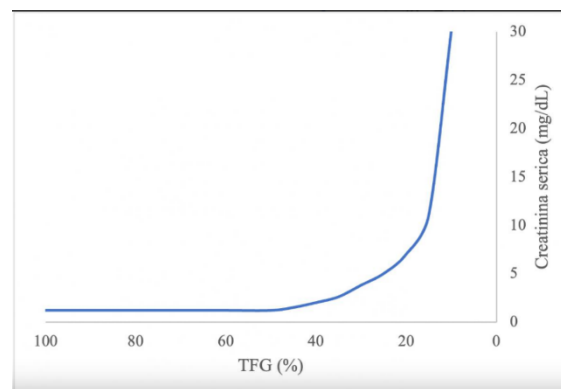
La creatinina se forma en el musculo a partir del fosfato de creatina por medio de la deshidratación no enzimática irreversible, y pérdida de fosfato; puesto que la excreción de creatinina en orina en 24 horas es proporcional a la masa muscular, proporciona una medida de si se ha reunido un espécimen completo de orina en 24 horas. (*Harper et all, 2016*)

Los animales jóvenes tienen concentraciones más bajas, mientras que los machos y los individuos muy musculosos tienen concentraciones más altas. La dieta no afecta a la concentración sérica de creatinina de forma apreciable. La creatinina no se metaboliza y se excreta casi por completo por los riñones mediante filtración glomerular. Su tasa de excreción es relativamente constante en estado de equilibrio y la concentración de creatinina en el suero varía inversamente con la tasa de filtración glomerular. Por lo tanto, *la determinación del aclaramiento de creatinina* proporciona una estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG). (*Ettinger et all. 2007*)

La concentración de creatinina sérica, un sustituto de la TFG es la prueba de laboratorio principal utilizada para identificar la función renal deteriorada. Sin embargo, es relativamente insensible para estimar la TFG hasta que se ha producido una reducción sustancial en la función renal. Se necesita una reducción del 75% en la TFG antes de que los valores de creatinina sérica superen consistentemente los rangos de referencia. La insensibilidad de la creatinina sérica resulta de al menos dos factores importantes: la relación innata entre la TFG y la creatinina sérica y la comprensión de que condiciones distintas a la enfermedad renal intrínseca pueden causar un aumento en la concentración de creatinina sérica. (*Ettinger et all 2017*)

La relación entre la creatinina sérica y la TFG es tal que cada vez que la TFG disminuye a la mitad, la concentración de creatinina sérica se duplica. Por ejemplo, si un perro tiene una creatinina basal de 0.5 mg/dL y su TFG disminuye en un 50%, la creatinina sérica solo aumenta a 1.0 mg/dL, aún dentro de los intervalos de referencia. Si ocurre una reducción

adicional del 50% en la TFG (ahora al 25% de la TFG original), la creatinina aumentará a aproximadamente 2.0 mg/dL, ligeramente anormal y a menudo reconocida. Una disminución adicional del 50% en la TFG (al 12.5% de lo normal) se refleja en una creatinina sérica de aproximadamente 4.0 mg/dL. Así, la pendiente del aumento en la concentración de creatinina sérica se vuelve mucho más pronunciada después de una pérdida sustancial de la TFG, pero es plana en la mayor parte del rango de la TFG. Se deduce que cuanto más amplio sea el rango normal para la concentración de creatinina sérica, menos sensible será para detectar la enfermedad renal intrínseca. Sin embargo, si el rango se vuelve demasiado estrecho, la creatinina sérica perderá especificidad porque otros factores pueden influir en el valor: masa muscular corporal, raza, etc. Este dilema es intrínseco a la naturaleza de la creatinina sérica y limita su utilidad en el diagnóstico temprano de la ERC. (Ettinger et al 2017)



(Cortadellas 2010)

Relación curvilínea entre la creatinina sérica y la tasa de filtración glomerular

Dimetil arginina simétrica (SDMA)

La dimetilarginina simétrica (SDMA) es un derivado dimetilado de la arginina producido a partir de la metilación intranuclear de residuos de L-arginina por la proteína-arginina metiltransferasa junto con su estereoisómero dimetilarginina asimétrica (ADMA). La SDMA se excreta principalmente a través de la filtración renal, lo que indica que tiene las características necesarias para ser un marcador endógeno de la función renal. Se ha demostrado que la SDMA plasmática se correlaciona bien con la concentración de creatinina plasmática. En gatos azotémicos y no azotémicos, se ha demostrado una relación lineal entre el recíproco de la SDMA ($1/\text{SDMA}$) y la TFG evaluada por la depuración plasmática de iohexol, funcionando de manera similar al recíproco de la creatinina ($1/\text{creatinina}$). Los estudios sugieren que las concentraciones de SDMA están menos influenciadas por la masa muscular corporal que la creatinina plasmática. Estudios preliminares sugieren que la SDMA puede ser un marcador más sensible de la disminución temprana de la función renal en gatos. La evaluación de la SDMA no parece verse afectada por la alimentación con una dieta renal suplementada con aceite de pescado o L-carnitina en perros. Sin embargo, aún se requiere más trabajo para determinar el efecto de enfermedades concurrentes en este nuevo marcador. Históricamente, la evaluación de la SDMA se ha visto limitada por la necesidad de cuantificación mediante espectrometría de masas por cromatografía líquida. Sin embargo, el desarrollo de un inmunoensayo disponible

comercialmente ha hecho que este marcador esté ampliamente disponible como prueba diagnóstica clínica.

El proceso de degradación de proteínas incluye la metilación de la arginina y la formación de numerosas moléculas, incluyendo dimetilarginina asimétrica (ADMA) y dimetilarginina simétrica (SDMA). ADMA es un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa y está asociado con disfunción endotelial, vasoconstricción y aumento de la presión arterial. Se elimina por el hígado y los riñones. En contraste, la SDMA tiene poca actividad fisiológica y $\geq 90\%$ se elimina por los riñones. La eliminación renal es a través de la filtración, sin reabsorción tubular. Las concentraciones séricas de SDMA se correlacionan bien con la TFG en gatos y perros. En perros con nefropatía hereditaria ligada al X, la SDMA sérica se correlacionó con la creatinina y la TFG estimada por iohexol. En un modelo canino de ERC, la SDMA se correlacionó mejor con la TFG que la creatinina. En 69 gatos con ERC, las concentraciones de SDMA aumentaron y se correlacionaron con la creatinina; la SDMA también se correlacionó bien con una gama de TFG en gatos ancianos. (*Ettinger et al 2017*)

Se ha demostrado que la SDMA es un marcador de enfermedad renal temprana en perros, gatos y humanos. Los perros con nefropatía hereditaria ligada al X progresan rápidamente de normales al nacer a enfermedad renal terminal. En una cohorte de perros machos con nefropatía hereditaria ligada al X, se siguieron las mediciones de SDMA sérica, creatinina y TFG estimada por la depuración de iohexol a lo largo de su enfermedad. La SDMA aumentó antes que la creatinina. El valor de SDMA aumentó con disminuciones del 30% en la TFG, mientras que la creatinina sérica no aumentó hasta una pérdida del 50% al 60% de la función renal. La creatinina se evaluó tanto como un valor de corte sérico único como en tendencia a lo largo del tiempo y en ambos casos la SDMA demostró ser un indicador más temprano de la pérdida de función renal. La tendencia de la creatinina sérica aumenta su sensibilidad para detectar la función renal reducida y es mejor que una sola medición. Sin embargo, la SDMA superó a la tendencia de la creatinina y demostró ser un mejor indicador de la enfermedad renal temprana. (*Ettinger et al 2017*)

Estudios longitudinales retrospectivos en perros y gatos que desarrollaron ERC han proporcionado más evidencia de que la SDMA sérica aumenta antes que la creatinina. Dos estudios retrospectivos en perros y gatos realizados durante varios años, a medida que desarrollaban ERC de forma natural, mostraron que la SDMA aumentaba antes que la creatinina, con una media de 17 meses en gatos (rango de 1.5 a 48 meses) y 10.2 meses en perros (rango de 0.5 a 32 meses). La SDMA aumentó después de una disminución de aproximadamente el 40% en la TFG (25% en un caso). (*Ettinger et al 2017*)

La SDMA es útil para identificar y monitorear la enfermedad renal en pacientes sarcopénicos. Un problema importante con la creatinina es su relación con la masa muscular. Un aumento en la masa muscular promueve valores más altos de creatinina, mientras que una masa muscular reducida se asocia con valores más bajos. Por ejemplo, los gatos ancianos con ERC a menudo desarrollan sarcopenia severa. Debido a la pérdida de masa muscular, las concentraciones de creatinina sérica son bajas en relación con la TFG y subestiman la gravedad de la disfunción renal. En contraste, la SDMA se ve mínimamente afectada por la masa muscular en perros y gatos. En un estudio en perros

que comparó la masa corporal magra, la edad, la creatinina sérica y la SDMA, se mostró que la masa corporal magra y la edad eran variables significativas para la creatinina, pero no para las concentraciones de SDMA. (*Ettinger et all 2017*)

La SDMA se utiliza mejor para complementar las pruebas renales existentes. Las concentraciones séricas de SDMA >14 µg/dL son anormales en perros y gatos. Aumentos en las concentraciones de SDMA y creatinina sérica con orina concurrente e inadecuadamente concentrada son consistentes con la enfermedad renal. Un aumento de la SDMA y una concentración de creatinina sérica dentro de los límites de referencia sugiere una enfermedad renal temprana. Sin embargo, aumentos persistentes de SDMA durante meses son una evidencia más fuerte de enfermedad renal. Aumentos persistentes de SDMA durante más de 3 meses en perros con creatinina sérica <1.4 mg/dL o gatos con creatinina sérica <1.6 mg/dL son consistentes con un diagnóstico de ERC en estadio I según IRIS. A diferencia de la creatinina, la SDMA no se ve influenciada por la masa corporal magra y, por lo tanto, será un mejor marcador de la enfermedad renal. (*Ettinger et all 2017*)

Limitaciones de los parámetros directos (tasa de aclaramiento urinario, tasa de aclaramiento en plasma, escintigrafía) e indirectos (urea, creatinina, SDMA) de medición de la tasa de filtración glomerular.		
Parámetro	Limitaciones	Factores que afectan su valor
Urea	Variación diaria de los niveles Reabsorbida por los túbulos renales	Ayuno (disminuye) Contenido proteico de la dieta Hemorragia gastrointestinal (aumenta) Función hepática reducida (disminuye) Diuresis (disminuye) Hipertiroidismo (disminuye)
Creatinina	Variación diaria de los niveles (<0.4 mg/dL o 35 µmol/L) Relación curvilínea con la TFG	Ingesta reciente de comida proteica (aumenta) Pérdida de masa muscular (disminuye) Hipertiroidismo (disminuye)
SDMA	Variación diaria de los niveles (<5.98 µg/dL) No hay rangos de referencia en animales >1 año Muy alta sensibilidad a la detección de bajada de TFG	Galgos (aumenta, máximo 19.9 µg/dL ²¹) Alta carga tumoral (aumenta) Gatos con diabetes mellitus (disminuye) Hipertiroidismo (disminuye ²²)
Tasa de aclaramiento urinario	Rangos de referencia muy amplios Toma de múltiples muestras de orina durante un periodo de tiempo prolongado	Estas pruebas diagnósticas estarán afectadas por la calidad de la técnica y laboratorio en el que se realicen las mediciones del marcador.
Tasa de aclaramiento en plasma	Rangos de referencia muy amplios	Estas pruebas diagnósticas estarán afectadas por la calidad de la técnica y laboratorio en el que se realicen las mediciones del marcador.
Escintigrafía	Rangos de referencia muy amplios Requiere instalaciones y equipamiento especializado Puede requerir sedación del paciente	Esta prueba puede verse afectada por la experiencia en la interpretación de las imágenes.

Hallazgos clínicos y laboratoriales que pueden ayudar a diferenciar entre fallo renal agudo y crónico, y algunos diagnósticos diferenciales más comunes (TFG: tasa de filtración glomerular; N: normal; ↑ elevado, ↓ disminuido).

Creatinina	↑/N	↑	• Normal: no excluye enfermedad renal o FRC. • Disminuido: fallo renal es improbable pero no excluye enfermedad renal. • Elevado: azotemia prerrenal, renal o postrenal, o ingestión reciente de carne.
Urea	N/↑	N/↑	• Normal: no excluye enfermedad renal o fallo renal. • Disminuida: no excluye enfermedad renal. Puede indicar fallo hepático o polidipsia/ poliuria. • Elevada: azotemia prerrenal, renal o postrenal, ingestión reciente de carne, hemorragia gastrointestinal.
SDMA	↑	↑	• Un valor normal no excluye enfermedad renal • Un valor elevado indica una TFG disminuida pero no es específico de fallo renal intrínseco

(Aida Gómez Selgas 2022)

CONCLUSIONES

La conclusión sobre la relación entre la Creatinina y la SDMA en el contexto de la enfermedad renal destaca varios puntos clave

- limitaciones de la creatinina: aunque la creatinina es un marcador renal comúnmente utilizado, tiene limitaciones significativas, especialmente en las etapas tempranas de la enfermedad renal crónica, debido a su baja sensibilidad y especificidad.
- la SDMA se presenta como un biomarcador más sensible y precoz para la detección de la enfermedad renal crónica. Su concentración en sangre está altamente correlacionada con la TFG, lo que permite una detección más temprana de la disfunción renal.
- La inclusión de la SDMA en el diagnóstico y monitorización de la ERC puede mejorar significativamente la capacidad de detectar y tratar la enfermedad en sus primeras etapas, lo que podría retrasar su progresión y mejorar la calidad de vida de los perros.
- Estudios demostraron una correlación significativa entre los niveles de creatinina y SDMA en perros, esto significa que en general cuando la creatinina está elevada, la SDMA tiende a elevarse de igual manera.
- Utilizar ambos marcadores en conjunto pueden proporcionar una imagen mas completa de la salud renal de un perro.

BIBLIOGRAFIA

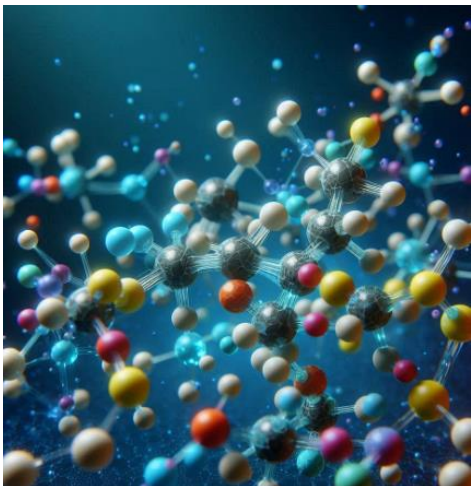
- Cortadellas, Ó., & Suárez, M. L. (2021). *Nefrología 3D en pequeños animales*. Grupo Asís Biomedia S.L.
- Ettinger, S. J., Feldman, E. C., & Cote, E. (2017). *Textbook of Veterinary Internal Medicine - eBook*. Elsevier Health Sciences.
- Rodwell, V. W., Bender, D., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2015). *Bioquímica ilustrada de Harper - 31.ed*. McGraw Hill Brasil.
- DiBartola, S. P. (2011). *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice - E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Ettinger, S. J., & Feldman, E. C. (2006). *Compendio de Medicina Interna Veterinaria*.
- Goodman, L. S. (2008). *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. McGraw Hill Professional.
- Lengua Lengua Diego (2017). Evaluación de la utilidad clínica del marcador SDMA en el diagnóstico de la enfermedad renal crónica en perros
- Gomez Selgaz Aida (2022) Evaluación laboratorial del fallo renal en perros y gatos
- Del Angel Caraza et al, (2022) Correlación de biomarcadores de función renal en el primer acercamiento diagnóstico de la enfermedad renal crónica en perros
- IDEXX Laboratories incorporation 2020
- Leguizamon Hildebrando (2014) Creatinina sérica como marcador de la función renal. Conceptos básicos. Tasa de filtración renal

- Nabity M. B. et all (2015) Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs
- Seijas et all (2014) definición y biomarcadores de daño renal agudo: nuevas perspectivas

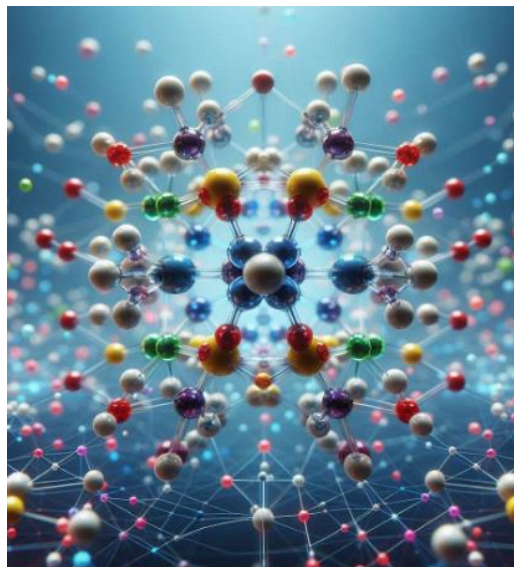
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DIPLOMADO
MEDICINA DE LABORATORIO BASADO EN LA EVIDENCIA
PROFESORES
GRACIELA CASTAÑEDA ACEVES
GUILLERMO VALDIVIA ANDA**

**ALUMNO
ZAVALA DÍAZ VÍCTOR**



CORRELACION ENTRE LA CREATININA Y EL SDMA EN CANINOS



INDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
a) BREVE REPASO DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA RENAL.....	5
ANTECEDENTES.....	8
OBJETIVOS.....	14
MATERIAL Y METODOS.....	14
RESULTADOS.....	15
DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIONES.....	22
BIBLIOGRAFÍA.....	23,24

INTRODUCCIÓN

Cada día, los glomérulos renales filtran un enorme volumen de agua plasmática y los túbulos deben reabsorber la mayor parte de esta agua junto con los solutos vitales, de modo que solo un pequeño volumen de agua y solutos innecesarios se excretan en forma de orina. (*Di Bartola, 2012*)

Por ejemplo, un perro normal de 10 kg puede tener una tasa de filtración glomerular de 4ml/min/día. En el transcurso de un día, este perro filtraría 57.6 L de agua plasmática en sus riñones. Si el 60% del peso corporal es agua, este volumen representa casi 10 veces el agua corporal total del perro. El mismo perro puede tener una diuresis de 33ml/kg/día. Así más del 99% del agua plasmática filtrada por los glomérulos es reabsorbida por los túbulos. Los túbulos proximales y las asas de Henle reabsorben aproximadamente el 85% del agua filtrada en los solutos, mientras que los conductos colectores ajustan la composición final de la orina para compensar las fluctuaciones en la ingesta y evitar cambios en el volumen y la composición de los fluidos corporales. (*Di Bartola. 2012*)

Cuando existe una alteración en la filtración glomerular o en la reabsorción tubular de agua y de solutos vitales y excreción de solutos innecesarios para el organismo por parte de la nefrona se dice que existe insuficiencia renal, esta condición puede ser aguda o crónica y afecta significativamente la salud y el bienestar de los perros.

El fallo renal agudo (lesión renal aguda) en perros, es una condición grave que se caracteriza por una pérdida rápida y repentina de la función renal. Esta situación puede ser potencialmente mortal si no se trata de manera oportuna.

El fallo renal crónico (enfermedad renal crónica) es una de las enfermedades que afectan a los perros mayores, aunque también puede afectar a perros de mediana edad y mínimamente en perros jóvenes. Se caracteriza por una pérdida progresiva e irreversible de la función renal. Las causas pueden incluir enfermedades congénitas, infecciones, toxinas, y enfermedades sistémicas como la hipertensión. Los signos clínicos pueden variar desde letargo, anorexia, vómitos, diarrea, pérdida de peso, poliuria y polidipsia entre otros.

Para la detección y manejo de la enfermedad renal en perros, se utilizan varios biomarcadores como la Creatinina sérica, SDMA, Cistatina C, Proteinuria, NGAL, NAG, KIM-1. (*P. Charlo et al 2020*)

Estos biomarcadores pueden proporcionar información valiosa sobre la función renal y ayudar a tomar decisiones mejor fundamentadas sobre el tratamiento, manejo y pronóstico de la enfermedad renal.

BREVE REPASO DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA RENAL

Los riñones del perro macroscópicamente son de color marrón rojizo y contornos lisos que se localizan en el techo de la cavidad abdominal a cada lado de la columna vertebral junto a las vertebrae lumbares en posición retroperitoneal. Tienen forma de habichuela y en el centro de su borde medial cóncavo aparece una depresión denominada hilio por donde entran y salen los vasos renales, nervios y uréteres. El riñón derecho se sitúa mas cranealmente que el riñón izquierdo. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*

Los riñones son los órganos más irrigados del organismo, tiene un flujo sanguíneo que equivale al 20% del gasto cardiaco. La irrigación es mas rica en la corteza que en la medula alcanzando el 80% y el 20% respectivamente. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*

El parénquima renal está formado por la corteza, de coloración rojiza o marrón y de aspecto granulosos por la presencia de los corpúsculos renales y los túbulos contorneados; y la medula, normalmente más pálida y de aspecto estriado por la presencia de las asas de Henle y los túbulos colectores. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*

La médula renal se organiza en secciones triangulares denominadas pirámides renales, delimitada por los vasos interlobulares, cuyo vértice (papilas renales) se fusionan en la cresta central común, íntimamente asociada con una porción interna expandida de los uréteres (pelvis renal) que se localiza en el seno renal en la región del hilio. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*

La unidad funcional del riñón es la nefrona. El número de nefronas varía entre especies. En promedio un gato tendrá alrededor de 200 000 nefronas por riñón y un perro tendrá en promedio 700 000 nefronas por riñón. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*

Las nefronas de los mamíferos siguen el modelo básico y está compuesto por un corpúsculo renal (formado por el glomérulo y la cápsula glomerular), los túbulos (contorneado proximal, asa de Henle y contorneado distal) y los túbulos colectores, que recogen el filtrado de varias nefronas y desembocan en los conductos papilares. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*

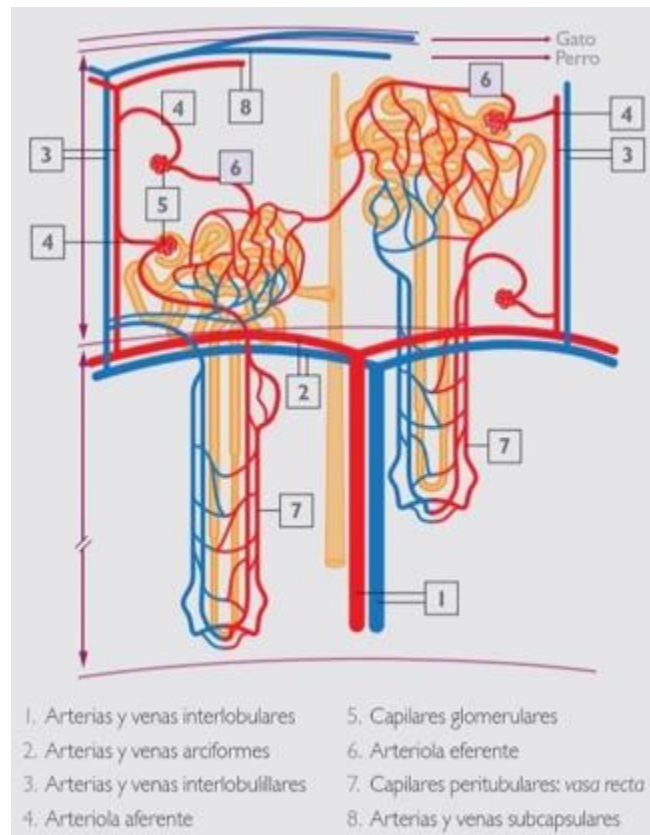
Se identifican 2 tipos de nefronas según la localización de sus glomérulos y la profundidad de penetración de sus asas de Henle en la medula:

- Nefronas corticales: aquellas que tienen los glomérulos en la zona externa o media de la corteza y cuyas asas de Henle se extienden hasta la unión de la corteza con la médula o ligeramente en la zona mas externa de la medula.
- Nefronas yuxtamedulares: son aquellas nefronas que tienen los glomérulos en la zona próxima a la médula y cuyas asas de Henle se extienden bien profundas, casi alcanzando la pelvis renal. Estas nefronas son las encargadas de mantener el gradiente osmótico entre la parte más externa e interna de la médula. El porcentaje de este tipo de nefronas varía entre especies, pero en el gato son casi el 100%. *(Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)*



Anatomía del riñón

(Cortadellas 2021)



La irrigación renal corre a cargo de la arteria renal que es una rama directa de la aorta. En la mayoría de los casos, antes de entrara en el hilio la arteria renal se divide en 2 ramas, dorsal y ventral. En el gato pequeñas ramificaciones adicionales de la arteria renal viajan a lo largo de la periferia del riñón para irrigar la superficie cortical y la capsula renal. (Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)

Una vez penetran el hilio, la ramificación posterior da lugar a las arterias interlobulares que se introducen en el parénquima renal. Las arterias arciformes (arcuatas) son ramas de las arterias interlobulares en la unión cortico medular. Las arterias interlobulillares surgen de las arterias arciformes y se extienden radialmente a través de la corteza hacia la superficie del riñón, algunas extendiéndose dentro de la cápsula. Las arterias interlobulillares emiten arteriolas aferentes que cuando llegan al corpúsculo renal se ramifican y forman la red de capilares glomerulares; Estos capilares glomerulares se vuelven a anastomosar formando la arteriola eferente, que alimenta una segunda red capilar que rodea los túbulos renales. El riñón tiene, tal como se describe, dos redes capilares conectadas por una arteriola, y por lo tanto un sistema porta. (Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010)

El glomérulo constituye el primer lecho capilar. Las arteriolas eferentes de los glomérulos localizados periféricamente en la corteza suministran capilares peritubulares alrededor de los túbulos corticales mientras que las arteriolas eferentes de los glomérulos yuxtamedulares, suministran capilares peritubulares alrededor de los túbulos medulares. En la médula, la red capilar peritubular se forma entre las arteriolas eferentes descendentes y las vénulas que remontan hacia la corteza. Estos vasos más o menos rectos y sus

conexiones se denominan *vasa recta*. Las venas renales son generalmente satélites de las arterias. Las vénulas surgen de los lechos capilares que rodean los túbulos corticales y medulares. Las venas viajan con ramas arteriales, vaciando en venas interlobulillares, arciformes, interlobulares y finalmente renales. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

Un sistema venoso subcapsular drena la cápsula renal. En el gato, estas venas (*venas capsulares*) se localizan dentro o inmediatamente debajo de la cápsula y se continúan alrededor de la periferia del riñón hasta la región ciliar donde drenan directamente a la vena renal. En el perro, las venas son más profundas dentro de la corteza y se corresponden con las venas estrelladas que drenan en la corteza y finalmente en la vena renal, que llevan la sangre a la vena cava caudal. (*Oscar Cortadellas Rodríguez, 2010*)

Los riñones tienen diferentes funciones para mantener la homeostasis del cuerpo entre ellas se encuentra

- Filtración de sangre
 - Regulación del equilibrio de líquidos y electrolitos
 - Regulación de la presión arterial
 - Regulación del equilibrio ácido base
 - Producción de hormonas
 1. eritropoyetina
 2. calcitriol
 - Eliminación de desechos metabólicos
- (*Torres 2023*)

(*Cortadellas 2021*)



Proceso
de formación
de la orina

Como hemos leído el riñón tiene varias funciones que son importantes para que el organismo funcione adecuadamente; En este trabajo escrito solo hablaremos bajo el contexto de la fisiología de excreción renal y sus biomarcadores Creatinina y SDMA.

ANTECEDENTES

El uso de la creatinina como marcador de la función renal comenzó a desarrollarse a principios del siglo XX. En 1920, el nefrólogo estadounidense Homer Smith fue uno de los primeros en proponer la creatinina como un indicador de la tasa de filtración glomerular (TFG), debido a su producción constante y eliminación casi exclusiva por los riñones. *(Leguizamón 2014)*

En la década de los 50s y 60s la medición de creatinina sérica se convirtió en una práctica común en la medicina clínica para evaluar la función renal. *(Seijas et al 2014)*

En los años 70s se desarrollaron formulas para estimar la TFG a partir de los niveles de creatinina sérica, como la fórmula de Cockcroft-Gault. *(Seijas et al 2014)*

La entrada al nuevo siglo trajo consigo la ecuación de MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) y, mas recientemente, la ecuación CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) mejoraron la precisión de las estimaciones de la TFG basadas en creatinina. *(Seijas et al. 2014)*

La creatinina sérica ha sido durante décadas un biomarcador estándar para evaluar el funcionamiento renal pero no es un marcador sensible para la detección temprana de la enfermedad renal. *(IDEXX)*

La Dimetil arginina simétrica (SDMA) se identificó por primera vez en 1970 como un producto de la metilación del aminoácido arginina. *(IDEXX)*

En 2006 un meta-análisis demostró una alta correlación entre el SDMA y las pruebas de función renal en humanos. *(IDEXX)*

En 2008, se publico uno de los primeros estudios sobre la SDMA en medicina veterinaria, específicamente en gatos con azoemia. *(IDEXX)*

La sensibilidad de la SDMA detecta cambios en la función renal mucho antes que la creatinina, y a diferencia de esta no se ve influenciada por la masa muscular, lo que la hace más confiable en perros de diferentes tamaños y composiciones corporales. *(IDEXX)*

La SDMA se utiliza tanto para la detección temprana de la enfermedad renal como para monitoreo de la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. *(IDEXX)*

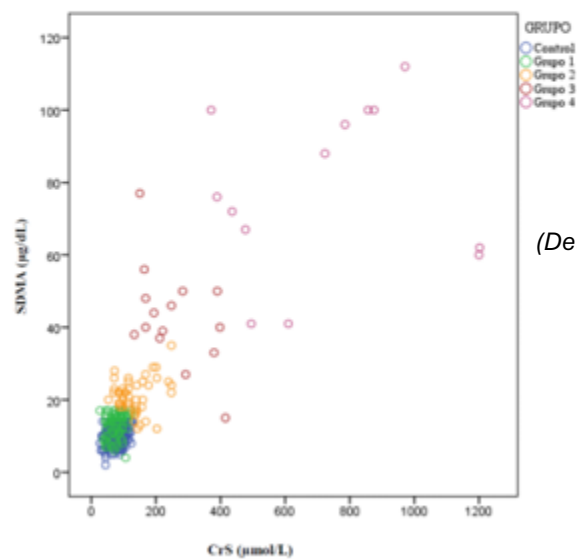
Estudios clínicos han demostrado que la SDMA es un indicador mas sensible de la ERC en estadios tempranos en perros y gatos en comparación con la creatinina. La SDMA proporciona información adicional cuando se utiliza junto con la creatinina sérica. *(IDEXX)*

Hay una correlación significativa entre los niveles de SDMA y creatinina, pero la SDMA tiende a elevarse antes que la creatinina en caso de disfunción renal. *(IDEXX)*

En resumen, la SDMA es un biomarcador mas sensible y específico que la creatinina para la detección temprana de la enfermedad renal en perros, lo que permite intervenciones oportunas y un mejor manejo de la enfermedad. *(IDEXX)*

En un estudio, descriptivo y prospectivo realizado en el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México donde se evaluaron 388 perros los cuales se dividieron en 5 grupos se encontraron los siguientes resultados correspondientes a la creatinina y la SDMA. (Del Angel-Caraza et al. 2022)

La relación entre las variables CrS y SDMA en los grupos de estudio se muestra en el diagrama de dispersión (Figura 1). Se observó incremento de ambos biomarcadores con relación a la gravedad de la enfermedad (GC: $r=0.23$, $p<0.001$, pERC: $r=0.69$, $p<0.001$).



(Del Angel-Caraza et al. 2022)

Figura 1. Diagrama de dispersión de CrS ($\mu\text{mol/L}$) y SDMA ($\mu\text{g/dL}$) en los grupos de estudio.

En otro estudio realizado por IDEXX se tuvieron en cuenta a todos los paneles bioquímicos de perros y gatos de Estados Unidos enviados a laboratorios de referencia a IDEXX en un periodo de inscripción de 22 meses desde Julio del 2015. Los animales debían tener entre 1 y 25 años y debían contar con al menos 3 paneles bioquímicos incluyendo la prueba IDEXX SDMA realizado durante el periodo de inscripción.

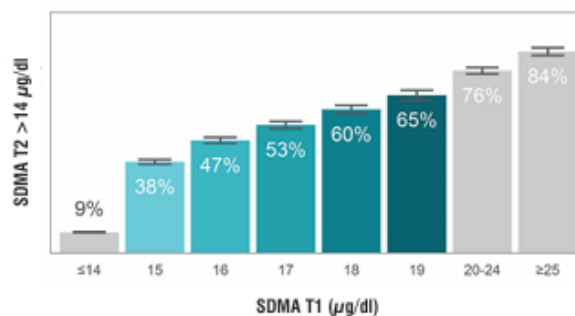
Con el fin de limitar la inclusión de pacientes con un deterioro renal presente, el primer resultado (T0) tenía que estar dentro del intervalo de referencia (IR) de SDMA y creatinina ($\text{SDMA} \leq 14\mu\text{g/dl}$ y creatinina $\leq 2,3\text{ mg/dl}$ en gatos y $\leq 1,5\text{ mg/dl}$ en perros). El segundo resultado (T1) no tenía restricciones de valor. Sólo había que seguir un resultado bioquímico acorde con los requisitos de (T0). El tercer resultado (T2) tenía que producirse entre 14 días y 12 meses después del T1. Este resultado y todos los siguientes resultados bioquímicos se emplearon para evaluar la probabilidad de un futuro aumento de las concentraciones de

SDMA, la concordancia de la creatinina y para examinar los plazos de seguimiento. Estudio fueron de interés los 16,454 gatos y 16,523 perros en los que las concentraciones de SDMA T1 superaban el límite máximo de IR (14 µg/dl) Y la comparación de probabilidad de un aumento de la concentración de SDMA en la siguiente prueba con la de los 43,764 gatos y 112,999 perros, cuya concentración de SDMA T1 estaba dentro del IR.

La probabilidad de un aumento de la concentración de SDMA en la siguiente prueba se calculó en forma de porcentaje de concentraciones de SDMA en T2 sobre el IR y se presentaron con intervalos de un 95% de confianza calculados mediante el método exacto binomial. Empleo estimador de a Allen Johansson para las intensidades de transición acumulativas con el fin de calcular la probabilidad de que los resultados de creatinina superaran el IR en cualquier momento tras un aumento de la SDMA. Se emplearon pruebas de equivalencia para comparar las probabilidades de persistencia de gatos y perros con concentraciones de SDMA T1 de 15-19 µg/dl con pruebas de seguimiento en 1 mes con aquéllos con seguimiento entre 1 y 6 meses y aquéllos entre 6 y 12 meses. Se empleó un umbral de equivalencia de $\pm 5\%$ de probabilidad de aumento persistente de la concentración de SDMA en el seguimiento T2 con un nivel de significación del 5% ($P < 0.05$) tras ajustar múltiples comparaciones mediante el método de Holm-Bonferroni.

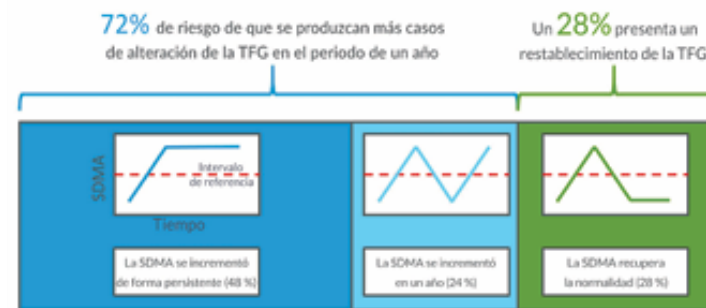
Este estudio estaba limitado por la dependencia de los datos recogidos de forma retrospectiva, es decir, los gatos y perros del estudio tenían diagnósticos, tratamientos y resultados desconocidos. Además, el requisito del estudio de que los animales se hubieran sometido a 3 o más paneles bioquímicos puede haber distorsionado la muestra en favor de los animales que recibieron más atención veterinaria o con un peor estado de salud que aquéllos que no se sometieron a pruebas de diagnóstico regulares. Este estudio también puede haberse visto limitado por el sesgo de supervivencia, puesto que los animales que murieron antes de someterse a 3 paneles bioquímicos no se tuvieron en cuenta. Los datos del estudio no incluyeron animales para los que no se realizaron pruebas de seguimiento con el fin de controlar el aumento de los marcadores renales. El uso de los resultados de las pruebas disponibles significa que los tiempos entre los paneles bioquímicos variaron y que se vieron influenciados por variables confusas y desconocidas y es posible que no representen todas las actividades de seguimiento.

Probabilidad de aumento de la SDMA en el seguimiento por la concentración de SDMA T1



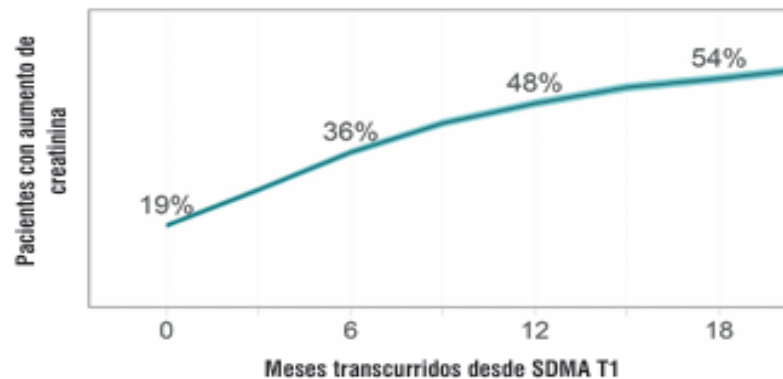
La probabilidad de aumento de la SDMA en el seguimiento aumenta de forma proporcional con la concentración de SDMA T1

Porcentaje de riesgo de aumento de la concentración de SDMA en las pruebas de seguimiento tras una concentración de SDMA T1 ligeramente aumentada



El 72 % de los perros y gatos con un aumento ligero de concentración de SDMA presenta otra concentración de SDMA sobre el IR en el periodo de 1 año

Porcentaje de pacientes con aumento de la creatinina representados en los intervalos de tiempo tras la detección de una concentración elevada de SDMA T1.



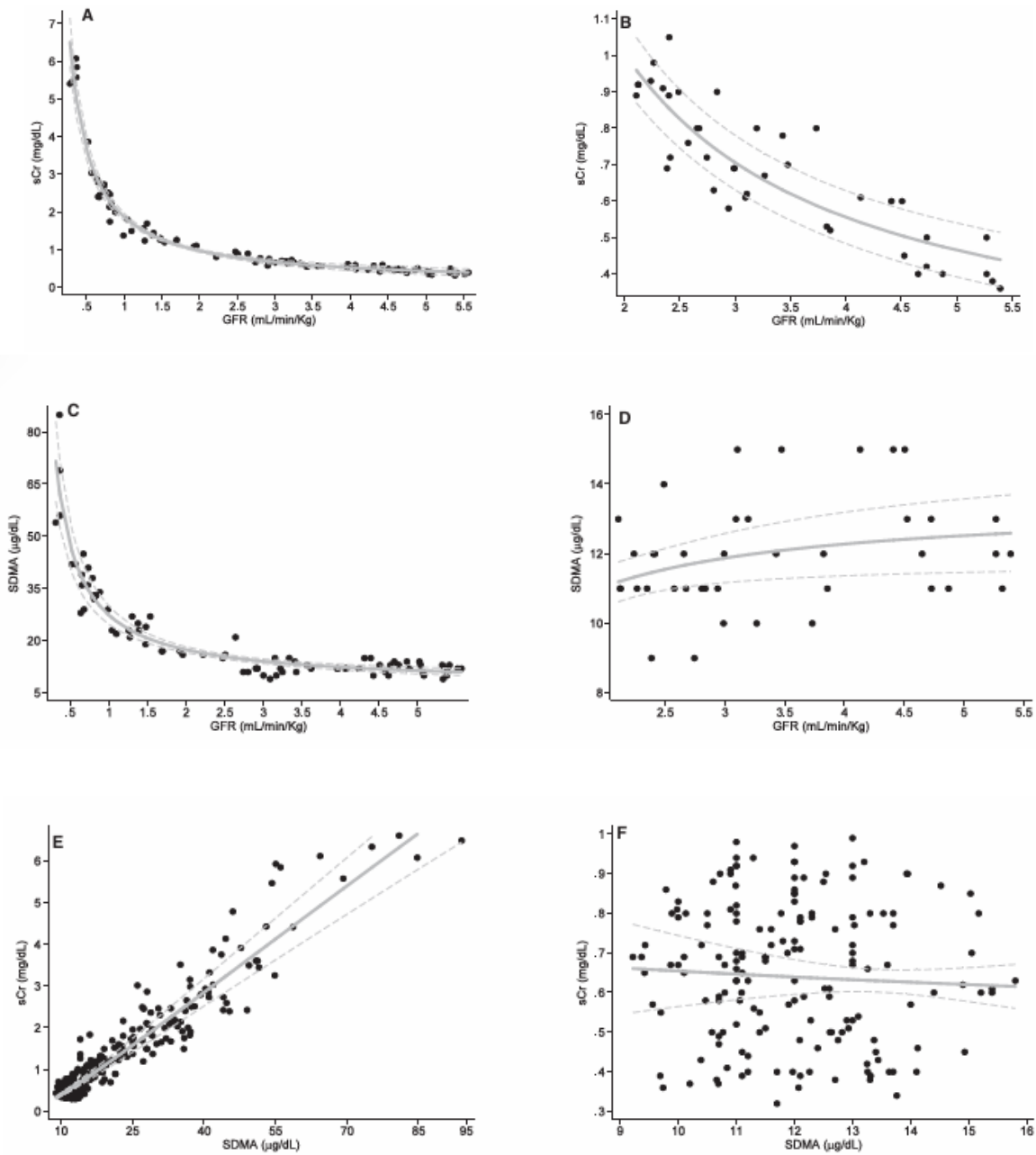
Las concentraciones de SDMA ligeramente elevadas y persistentes suelen preceder a un aumento de la creatinina

Nabity et all. Realizaron un estudio llamado: Validación del ensayo de Dimetil arginina simétrica, Estabilidad y Evaluación como Marcador para la Detección Temprana de la Enfermedad Renal Crónica en Perros

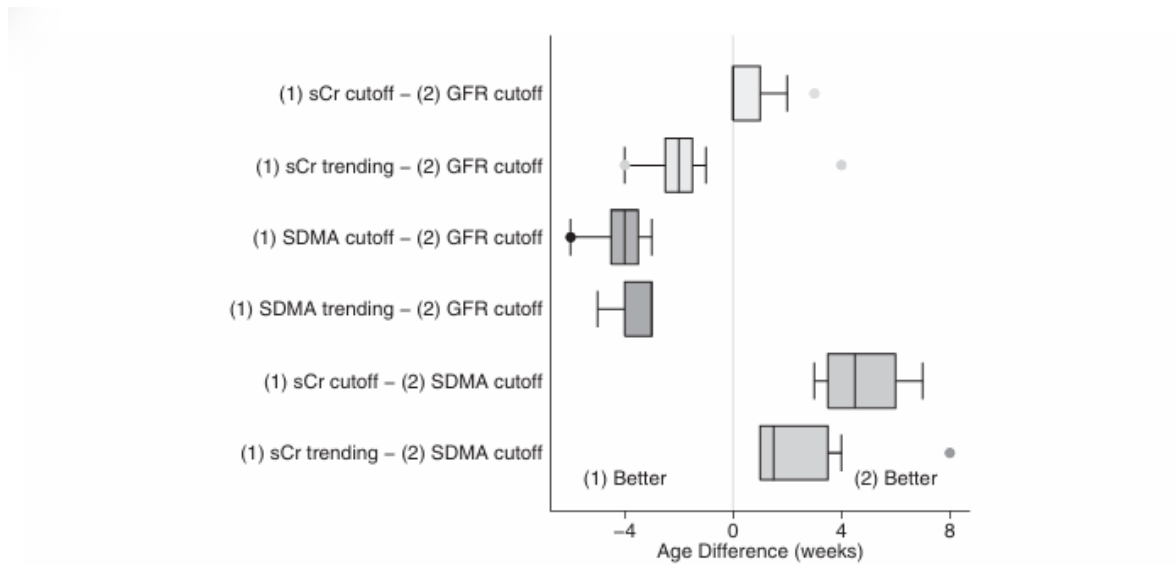
Mediante un estudio prospectivo validando la medición de SDMA utilizando cromatografía líquida-espectrometría de masas, evaluando la estabilidad de SDMA en suero y plasma, y determinando secuencialmente Creatinina sérica (sCr), SDMA y TFG (usando la depuración de iohexol) en perros durante la progresión de la enfermedad desde la fase preclínica hasta la insuficiencia renal terminal. Las correlaciones se determinaron utilizando regresión lineal. Se compararon los puntos de tiempo en los que sCr, SDMA y TFG identificaron la

disminución de la función renal utilizando valores de corte definidos, tendencias en un perro individual y comparación con compañeros de camada no afectados.

Resultados: La dimetilarginina simétrica fue altamente estable en suero y plasma, y el ensayo demostró un excelente rendimiento analítico. En perros no afectados, la SDMA permaneció sin cambios, mientras que, en perros afectados, la SDMA aumentó durante la progresión de la enfermedad, correlacionándose fuertemente con un aumento en la creatinina sérica (sCr) ($r = 0.95$) y una disminución en la TFG ($r = 0.95$). Aunque la tendencia mejoró la sensibilidad de la sCr, la SDMA identificó, en promedio, una disminución de $<20\%$ en la TFG, lo cual fue más temprano que la sCr utilizando cualquier método de comparación.



Correlations of serum creatinine (sCr), SDMA and GFR in dogs affected with X-linked hereditary nephropathy ($n = 8$; graphs A, C, and E) and unaffected littermates ($n = 4$; graphs B, D, and F).



Difference in weeks between comparisons of various methods for the analysis of serum creatinine (sCr), SDMA, and GFR for detecting initial decline in renal function in dogs affected with X-linked hereditary nephropathy (n = 8). Age difference was calculated by subtracting the age at which a decrease in renal function was identified by method (2) from that identified by method (1). “(1) Better” indicates that method (1) detected a decline in renal function earlier than method (2); “(2) Better” indicates that method (2) detected this decline earlier than method (1). sCr cutoff: sCr $\geq$ 1.2 mg/dL; GFR cutoff: GFR $<$ 2 mL/min/kg; SDMA cutoff: SDMA $\geq$ 14 μ g/dL; sCr and SDMA trending refer to detection of a clinically relevant difference in the rate of change from prior values in an individual dog.

Glomerulonefritis
inmunomediada



(Cortadellas 2021)

OBJETIVOS

- Determinar la correlación que existe entre la creatinina y SDMA en perros con enfermedad renal
- Conocer cual biomarcador es más sensible en etapas tempranas de enfermedad renal
- Conocer la relación que existe entre creatinina y la tasa de filtración glomerular
- Conocer la relación que existe entre SDMA y la tasa de filtración glomerular
- Determinar la relación entre SDMA, Creatinina y TFG

MATERIAL Y METODOS

Material bibliográfico

- Revistas científicas
- Libros
- Paginas web

Método de investigación

- Se aplicó la investigación bibliográfica como parte del método científico; para ello se localizaron documentos relacionados con el tema en específico que se caracteriza por utilizar datos secundarios como fuente de información.

RESULTADOS

1.- Correlación significativa

Un estudio mostró una correlación significativa entre el SDMA y la creatinina ($r=0.794$; $p=0,006$), lo que indica que ambos biomarcadores están relacionados, aunque la SDMA tiende elevarse antes que la creatinina en casos de disfunción renal.

2.- Detección temprana

La SDMA puede detectar la disminución de la tasa de filtración glomerular con una pérdida de sólo el 25 al 40% de la función renal, mientras que la creatinina requiere una pérdida del 75% para mostrar un aumento significativo.

3.- Especificidad y Sensibilidad

La SDMA no se ve influenciada por la masa muscular, lo que la hace más específica y sensible en comparación con la creatinina, especialmente en perros de diferentes tamaños y composiciones corporales.

4.- Monitoreo de la Progresión

En un estudio el 81% de los animales con una SDMA ligeramente elevada de forma persistente tenía la creatinina dentro del intervalo de referencia cuando aumentó la SDMA por primera vez. La mitad de los perros presentaba un aumento de la creatinina al año de presentar aumento de la SDMA persistente.

DISCUSIÓN

Filtración glomerular: En los capilares glomerulares, una porción del agua del plasma es forzada a través de un filtro que tiene tres componentes básicos: las células endoteliales de capilares fenestrados, una membrana basal que yace justo por debajo de las células endoteliales, y los diafragmas de hendidura de filtración formados por células epiteliales que cubren la membrana basal sobre su lado del espacio urinario. (*Goodman and Gillman 2023*)

Los solutos de pequeño tamaño fluyen con el agua filtrada (arrastre de solventes) hacia el espacio urinario (de Bowman), En tanto la barrera de filtración retienen los elementos formes y las macromoléculas. Para cada unidad de nefrona, la filtración glomerular de nefrona única (SNGFR) está en función de la presión hidrostática en los capilares glomerulares (P_{GC}), la presión hidrostática en el espacio de Bowman (que puede considerarse idéntica a la presión de los túbulos proximales P_T), la presión coloidosmótica media en los capilares glomerulares (Π_{GC}), la presión coloidosmótica en los túbulos proximales (Π_{GC}), y el coeficiente de ultrafiltración (K_f), según la ecuación:

$$SNGFR = K_f[(P_{GC}-P_T)-(\Pi_{GC}-\Pi_T)]$$

Si $P_{GC}-P_T$ se define como la diferencia de presión hidráulica transcapilar (ΔP), y si la presión coloidosmótica en los túbulos proximales (Π_T) es insignificante (como suele serlo pues se filtra poca proteína), entonces:

$$SNGFR=K_f(\Delta P- \Pi_{GC})$$

Esta última ecuación expresa de manera sucinta los tres determinantes principales de la filtración glomerular de nefrona única. Sin embargo, cada uno de esos tres determinantes puede ser influido por otras variables. El coeficiente de ultrafiltración (K_f) está determinado por las propiedades fisicoquímicas de la membrana de filtración y por el área de superficie disponible para filtración. La presión hidráulica transcapilar (ΔP) determinada principalmente por la presión arterial y por la proporción de esta última que se transmite hacia los capilares glomerulares. La presión coloidosmótica media en los capilares glomerulares (Π_{GC}) está dada por 2 variables, es decir, concentración de proteína en sangre arterial que entran en el glomérulo, y el flujo sanguíneo de nefrona única (Q_A). Este último influye sobre la Π_{GC} porque, conforme la sangre atraviesa el lecho capilar glomerular, la filtración concentra proteína en los capilares, lo cual hace que la expresión coloidosmótica media en los capilares glomerulares (Π_{GC}) aumenta con la distancia a lo largo del lecho glomerular. Cuando el flujo sanguíneo de nefrona única (Q_A) es alto, este efecto se reduce; sin embargo, cuando es bajo, la Π_{GC} puede incrementarse hasta el grado en que la $\Pi_{GC} = \Delta P$, y la filtración se detiene (situación conocida como equilibrio de filtración).

Medición de la tasa de filtración glomerular GRF o TFG

Considere una sustancia que es filtrada por los glomérulos, pero no es reabsorbida ni secretada por los túbulos. La inulina es un polímero de la fructosa con una masa molecular de 5200 Da. La inulina es una sustancia ideal para medir la tasa de filtración glomerular

(GFR) y su depuración es el estándar de laboratorios para determinar dicha rapidez; pero no se emplea en clínica porque requiere la infusión intravenosa de esta sustancia y no es una prueba de la que se disponga de manera sistemática en la mayor parte de los laboratorios de anatomía patológica clínica. Por otro lado, la creatinina es producida de manera endógena por el organismo y excretada principalmente por filtración glomerular de modo que es posible emplear su depuración para estimar la GFR en el estado estable. (*Di Bartola, 2012*)

Creatinina

En el perro y en el gato la creatinina es filtrada por los glomérulos y no es reabsorbida ni secretada por los túbulos. Los valores de depuración de creatinina endógena en el perro y el gato son de alrededor de 2 a 5 ml/min/kg. (*Di Bartola 2012*)

Entonces podemos utilizar la creatinina tanto plasmática como urinaria para determinar la tasa de filtración glomerular, y en este contexto podemos utilizar otros biomarcadores recientemente descubiertos para determinar si hay lesión y afectación de la función renal.

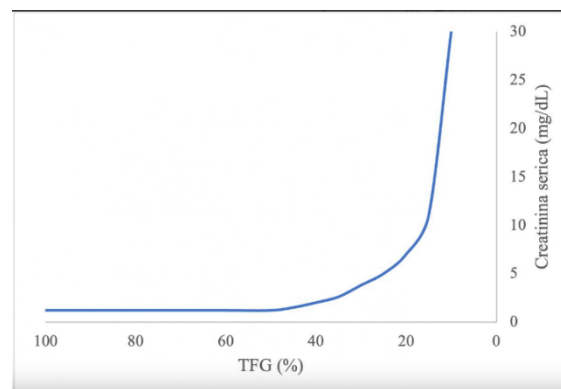
La creatinina se forma en el musculo a partir del fosfato de creatina por medio de la deshidratación no enzimática irreversible, y pérdida de fosfato; puesto que la excreción de creatinina en orina en 24 horas es proporcional a la masa muscular, proporciona una medida de si se ha reunido un espécimen completo de orina en 24 horas. (*Harper et all, 2016*)

Los animales jóvenes tienen concentraciones más bajas, mientras que los machos y los individuos muy musculosos tienen concentraciones más altas. La dieta no afecta a la concentración sérica de creatinina de forma apreciable. La creatinina no se metaboliza y se excreta casi por completo por los riñones mediante filtración glomerular. Su tasa de excreción es relativamente constante en estado de equilibrio y la concentración de creatinina en el suero varía inversamente con la tasa de filtración glomerular. Por lo tanto, *la determinación del aclaramiento de creatinina* proporciona una estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG). (*Ettinger et all. 2007*)

La concentración de creatinina sérica, un sustituto de la TFG es la prueba de laboratorio principal utilizada para identificar la función renal deteriorada. Sin embargo, es relativamente insensible para estimar la TFG hasta que se ha producido una reducción sustancial en la función renal. Se necesita una reducción del 75% en la TFG antes de que los valores de creatinina sérica superen consistentemente los rangos de referencia. La insensibilidad de la creatinina sérica resulta de al menos dos factores importantes: la relación innata entre la TFG y la creatinina sérica y la comprensión de que condiciones distintas a la enfermedad renal intrínseca pueden causar un aumento en la concentración de creatinina sérica. (*Ettinger et all 2017*)

La relación entre la creatinina sérica y la TFG es tal que cada vez que la TFG disminuye a la mitad, la concentración de creatinina sérica se duplica. Por ejemplo, si un perro tiene una creatinina basal de 0.5 mg/dL y su TFG disminuye en un 50%, la creatinina sérica solo aumenta a 1.0 mg/dL, aún dentro de los intervalos de referencia. Si ocurre una reducción

adicional del 50% en la TFG (ahora al 25% de la TFG original), la creatinina aumentará a aproximadamente 2.0 mg/dL, ligeramente anormal y a menudo reconocida. Una disminución adicional del 50% en la TFG (al 12.5% de lo normal) se refleja en una creatinina sérica de aproximadamente 4.0 mg/dL. Así, la pendiente del aumento en la concentración de creatinina sérica se vuelve mucho más pronunciada después de una pérdida sustancial de la TFG, pero es plana en la mayor parte del rango de la TFG. Se deduce que cuanto más amplio sea el rango normal para la concentración de creatinina sérica, menos sensible será para detectar la enfermedad renal intrínseca. Sin embargo, si el rango se vuelve demasiado estrecho, la creatinina sérica perderá especificidad porque otros factores pueden influir en el valor: masa muscular corporal, raza, etc. Este dilema es intrínseco a la naturaleza de la creatinina sérica y limita su utilidad en el diagnóstico temprano de la ERC. (Ettinger et al 2017)



(Cortadellas 2010)

Relación curvilínea entre la creatinina sérica y la tasa de filtración glomerular

Dimetil arginina simétrica (SDMA)

La dimetilarginina simétrica (SDMA) es un derivado dimetilado de la arginina producido a partir de la metilación intranuclear de residuos de L-arginina por la proteína-arginina metiltransferasa junto con su estereoisómero dimetilarginina asimétrica (ADMA). La SDMA se excreta principalmente a través de la filtración renal, lo que indica que tiene las características necesarias para ser un marcador endógeno de la función renal. Se ha demostrado que la SDMA plasmática se correlaciona bien con la concentración de creatinina plasmática. En gatos azotémicos y no azotémicos, se ha demostrado una relación lineal entre el recíproco de la SDMA ($1/\text{SDMA}$) y la TFG evaluada por la depuración plasmática de iohexol, funcionando de manera similar al recíproco de la creatinina ($1/\text{creatinina}$). Los estudios sugieren que las concentraciones de SDMA están menos influenciadas por la masa muscular corporal que la creatinina plasmática. Estudios preliminares sugieren que la SDMA puede ser un marcador más sensible de la disminución temprana de la función renal en gatos. La evaluación de la SDMA no parece verse afectada por la alimentación con una dieta renal suplementada con aceite de pescado o L-carnitina en perros. Sin embargo, aún se requiere más trabajo para determinar el efecto de enfermedades concurrentes en este nuevo marcador. Históricamente, la evaluación de la SDMA se ha visto limitada por la necesidad de cuantificación mediante espectrometría de masas por cromatografía líquida. Sin embargo, el desarrollo de un inmunoensayo disponible

comercialmente ha hecho que este marcador esté ampliamente disponible como prueba diagnóstica clínica.

El proceso de degradación de proteínas incluye la metilación de la arginina y la formación de numerosas moléculas, incluyendo dimetilarginina asimétrica (ADMA) y dimetilarginina simétrica (SDMA). ADMA es un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa y está asociado con disfunción endotelial, vasoconstricción y aumento de la presión arterial. Se elimina por el hígado y los riñones. En contraste, la SDMA tiene poca actividad fisiológica y $\geq 90\%$ se elimina por los riñones. La eliminación renal es a través de la filtración, sin reabsorción tubular. Las concentraciones séricas de SDMA se correlacionan bien con la TFG en gatos y perros. En perros con nefropatía hereditaria ligada al X, la SDMA sérica se correlacionó con la creatinina y la TFG estimada por iohexol. En un modelo canino de ERC, la SDMA se correlacionó mejor con la TFG que la creatinina. En 69 gatos con ERC, las concentraciones de SDMA aumentaron y se correlacionaron con la creatinina; la SDMA también se correlacionó bien con una gama de TFG en gatos ancianos. (*Ettinger et al 2017*)

Se ha demostrado que la SDMA es un marcador de enfermedad renal temprana en perros, gatos y humanos. Los perros con nefropatía hereditaria ligada al X progresan rápidamente de normales al nacer a enfermedad renal terminal. En una cohorte de perros machos con nefropatía hereditaria ligada al X, se siguieron las mediciones de SDMA sérica, creatinina y TFG estimada por la depuración de iohexol a lo largo de su enfermedad. La SDMA aumentó antes que la creatinina. El valor de SDMA aumentó con disminuciones del 30% en la TFG, mientras que la creatinina sérica no aumentó hasta una pérdida del 50% al 60% de la función renal. La creatinina se evaluó tanto como un valor de corte sérico único como en tendencia a lo largo del tiempo y en ambos casos la SDMA demostró ser un indicador más temprano de la pérdida de función renal. La tendencia de la creatinina sérica aumenta su sensibilidad para detectar la función renal reducida y es mejor que una sola medición. Sin embargo, la SDMA superó a la tendencia de la creatinina y demostró ser un mejor indicador de la enfermedad renal temprana. (*Ettinger et al 2017*)

Estudios longitudinales retrospectivos en perros y gatos que desarrollaron ERC han proporcionado más evidencia de que la SDMA sérica aumenta antes que la creatinina. Dos estudios retrospectivos en perros y gatos realizados durante varios años, a medida que desarrollaban ERC de forma natural, mostraron que la SDMA aumentaba antes que la creatinina, con una media de 17 meses en gatos (rango de 1.5 a 48 meses) y 10.2 meses en perros (rango de 0.5 a 32 meses). La SDMA aumentó después de una disminución de aproximadamente el 40% en la TFG (25% en un caso). (*Ettinger et al 2017*)

La SDMA es útil para identificar y monitorear la enfermedad renal en pacientes sarcopénicos. Un problema importante con la creatinina es su relación con la masa muscular. Un aumento en la masa muscular promueve valores más altos de creatinina, mientras que una masa muscular reducida se asocia con valores más bajos. Por ejemplo, los gatos ancianos con ERC a menudo desarrollan sarcopenia severa. Debido a la pérdida de masa muscular, las concentraciones de creatinina sérica son bajas en relación con la TFG y subestiman la gravedad de la disfunción renal. En contraste, la SDMA se ve mínimamente afectada por la masa muscular en perros y gatos. En un estudio en perros

que comparó la masa corporal magra, la edad, la creatinina sérica y la SDMA, se mostró que la masa corporal magra y la edad eran variables significativas para la creatinina, pero no para las concentraciones de SDMA. (*Ettinger et all 2017*)

La SDMA se utiliza mejor para complementar las pruebas renales existentes. Las concentraciones séricas de SDMA >14 µg/dL son anormales en perros y gatos. Aumentos en las concentraciones de SDMA y creatinina sérica con orina concurrente e inadecuadamente concentrada son consistentes con la enfermedad renal. Un aumento de la SDMA y una concentración de creatinina sérica dentro de los límites de referencia sugiere una enfermedad renal temprana. Sin embargo, aumentos persistentes de SDMA durante meses son una evidencia más fuerte de enfermedad renal. Aumentos persistentes de SDMA durante más de 3 meses en perros con creatinina sérica <1.4 mg/dL o gatos con creatinina sérica <1.6 mg/dL son consistentes con un diagnóstico de ERC en estadio I según IRIS. A diferencia de la creatinina, la SDMA no se ve influenciada por la masa corporal magra y, por lo tanto, será un mejor marcador de la enfermedad renal. (*Ettinger et all 2017*)

Limitaciones de los parámetros directos (tasa de aclaramiento urinario, tasa de aclaramiento en plasma, escintigrafía) e indirectos (urea, creatinina, SDMA) de medición de la tasa de filtración glomerular.		
Parámetro	Limitaciones	Factores que afectan su valor
Urea	Variación diaria de los niveles Reabsorbida por los túbulos renales	Ayuno (disminuye) Contenido proteico de la dieta Hemorragia gastrointestinal (aumenta) Función hepática reducida (disminuye) Diuresis (disminuye) Hipertiroidismo (disminuye)
Creatinina	Variación diaria de los niveles (<0.4 mg/dL o 35 µmol/L) Relación curvilínea con la TFG	Ingesta reciente de comida proteica (aumenta) Pérdida de masa muscular (disminuye) Hipertiroidismo (disminuye)
SDMA	Variación diaria de los niveles (<5.98 µg/dL) No hay rangos de referencia en animales >1 año Muy alta sensibilidad a la detección de bajada de TFG	Galgos (aumenta, máximo 19.9 µg/dL ²¹) Alta carga tumoral (aumenta) Gatos con diabetes mellitus (disminuye) Hipertiroidismo (disminuye ²²)
Tasa de aclaramiento urinario	Rangos de referencia muy amplios Toma de múltiples muestras de orina durante un periodo de tiempo prolongado	Estas pruebas diagnósticas estarán afectadas por la calidad de la técnica y laboratorio en el que se realicen las mediciones del marcador.
Tasa de aclaramiento en plasma	Rangos de referencia muy amplios	Estas pruebas diagnósticas estarán afectadas por la calidad de la técnica y laboratorio en el que se realicen las mediciones del marcador.
Escintigrafía	Rangos de referencia muy amplios Requiere instalaciones y equipamiento especializado Puede requerir sedación del paciente	Esta prueba puede verse afectada por la experiencia en la interpretación de las imágenes.

Hallazgos clínicos y laboratoriales que pueden ayudar a diferenciar entre fallo renal agudo y crónico, y algunos diagnósticos diferenciales más comunes (TFG: tasa de filtración glomerular; N: normal; ↑ elevado, ↓ disminuido).

Creatinina	↑/N	↑	• Normal: no excluye enfermedad renal o FRC. • Disminuido: fallo renal es improbable pero no excluye enfermedad renal. • Elevado: azotemia prerrenal, renal o postrenal, o ingestión reciente de carne.
Urea	N/↑	N/↑	• Normal: no excluye enfermedad renal o fallo renal. • Disminuida: no excluye enfermedad renal. Puede indicar fallo hepático o polidipsia/ poliuria. • Elevada: azotemia prerrenal, renal o postrenal, ingestión reciente de carne, hemorragia gastrointestinal.
SDMA	↑	↑	• Un valor normal no excluye enfermedad renal • Un valor elevado indica una TFG disminuida pero no es específico de fallo renal intrínseco

(Aida Gómez Selgas 2022)

CONCLUSIONES

La conclusión sobre la relación entre la Creatinina y la SDMA en el contexto de la enfermedad renal destaca varios puntos clave

- limitaciones de la creatinina: aunque la creatinina es un marcador renal comúnmente utilizado, tiene limitaciones significativas, especialmente en las etapas tempranas de la enfermedad renal crónica, debido a su baja sensibilidad y especificidad.
- la SDMA se presenta como un biomarcador más sensible y precoz para la detección de la enfermedad renal crónica. Su concentración en sangre está altamente correlacionada con la TFG, lo que permite una detección más temprana de la disfunción renal.
- La inclusión de la SDMA en el diagnóstico y monitorización de la ERC puede mejorar significativamente la capacidad de detectar y tratar la enfermedad en sus primeras etapas, lo que podría retrasar su progresión y mejorar la calidad de vida de los perros.
- Estudios demostraron una correlación significativa entre los niveles de creatinina y SDMA en perros, esto significa que en general cuando la creatinina está elevada, la SDMA tiende a elevarse de igual manera.
- Utilizar ambos marcadores en conjunto pueden proporcionar una imagen mas completa de la salud renal de un perro.

BIBLIOGRAFIA

- Cortadellas, Ó., & Suárez, M. L. (2021). *Nefrología 3D en pequeños animales*. Grupo Asís Biomedia S.L.
- Ettinger, S. J., Feldman, E. C., & Cote, E. (2017). *Textbook of Veterinary Internal Medicine - eBook*. Elsevier Health Sciences.
- Rodwell, V. W., Bender, D., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2015). *Bioquímica ilustrada de Harper - 31.ed*. McGraw Hill Brasil.
- DiBartola, S. P. (2011). *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice - E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Ettinger, S. J., & Feldman, E. C. (2006). *Compendio de Medicina Interna Veterinaria*.
- Goodman, L. S. (2008). *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. McGraw Hill Professional.
- Lengua Lengua Diego (2017). Evaluación de la utilidad clínica del marcador SDMA en el diagnóstico de la enfermedad renal crónica en perros
- Gomez Selgaz Aida (2022) Evaluación laboratorial del fallo renal en perros y gatos
- Del Angel Caraza et al, (2022) Correlación de biomarcadores de función renal en el primer acercamiento diagnóstico de la enfermedad renal crónica en perros
- IDEXX Laboratories incorporation 2020
- Leguizamón Hildebrando (2014) Creatinina sérica como marcador de la función renal. Conceptos básicos. Tasa de filtración renal

- Nabity M. B. et all (2015) Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs
- Seijas et all (2014) definición y biomarcadores de daño renal agudo: nuevas perspectivas



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

EDUCACIÓN CONTINUA

Diplomado en Medicina de Laboratorio Basada en la Evidencia (MLBE)
Aplicada a la práctica Veterinaria

Dr. Guillermo Valdivia de Anda
MVZ Graciela Castañeda Aceves

TRABAJO FINAL

MODULO 6. Integración Diagnóstica

Método de la Técnica de Elastografía Hepática en Caninos y su Interpretación

PRESENTA: MVZ Silvia Leticia Bonilla Orozco

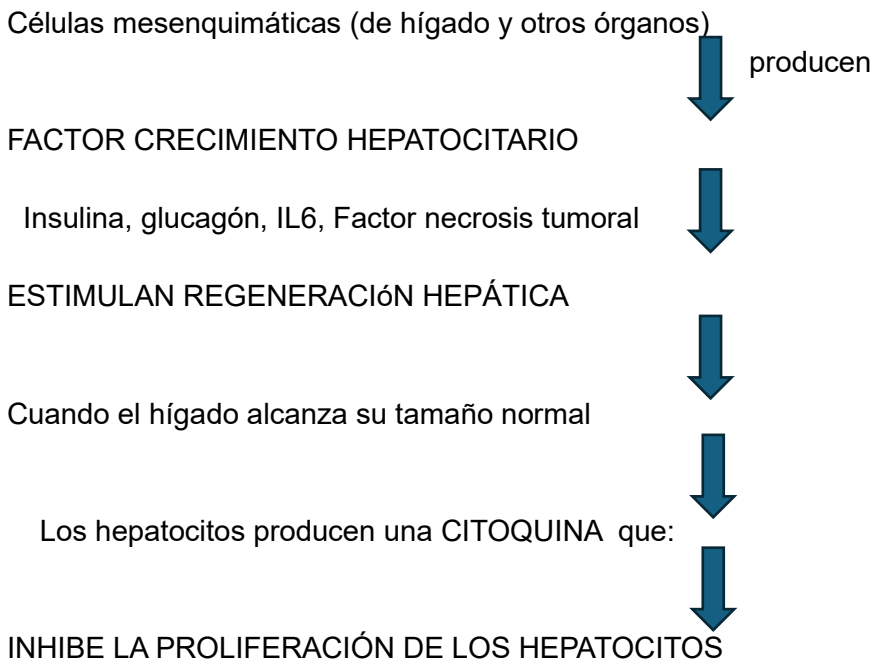
Agosto de 2024

INDICE

	PAG.
Introducción.....	1-2
Antecedentes.....	3.
Marco de referencia (hipotesis y objetivos).....	7
Material y/o métodos.....	7-8
Resultados.....	8-14
Discusión.....	8-14
Conclusiones.....	14
Bibliografía.....	15

INTRODUCCIÓN

El hígado es uno de los órganos más grandes del organismo y pesa aproximadamente un 3% del peso corporal. Está dividido en seis lóbulos, lo que le permite moverse libremente con los movimientos del diafragma. El hígado está limitado por las costillas, de forma que su palpación solamente es posible en los casos de hepatomegalia marcada. Es más probable apreciar una hepatomegalia en el gato, ya que el diafragma es más aplanado que en el caso del perro. Además, muchos desórdenes hepáticos de los perros cursan con una disminución del tamaño hepático en lugar de un aumento. El aporte sanguíneo al hígado procede en un 60-70% de la vena porta (que lleva sangre desde el estómago, intestino, páncreas y bazo) y en un 30-40% proviene de la arteria hepática. El hígado tiene una enorme capacidad de regeneración. Un 75% del tejido hepático puede ser extirpado y es capaz de regenerarse. Durante la regeneración los hepatocitos se reproducen 1 ó 2 veces, y cuando el hígado alcanza su tamaño y volumen original, las células hepáticas vuelven a su estado de quietud. Con respecto al mecanismo de regeneración no se conoce bien. Lo que se sabe es que las células mesenquimáticas del hígado y de otros tejidos (pero no los hepatocitos) producen un FACTOR DE CRECIMIENTO HEPATOCITARIO, que conjuntamente con otros factores como la IL6, el Factor de necrosis tumoral estimularían la regeneración de los hepatocitos; cuando el hígado llega a su tamaño normal los hepatocitos producirían una citoquina que actuaría inhibiendo la proliferación de las células hepáticas.



En pacientes con enfermedad hepática (inflamatoria, fibrosis, enfermedades infecciosas, etc) este proceso de regeneración y la capacidad funcional del hígado se deteriora.

El hígado tiene multitud de funciones, las cuales pueden ser alteradas en la enfermedad hepática. El hígado, por ejemplo, desempeña un papel central en el metabolismo de las proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales. El almacenamiento de glucógeno hepático proporciona al organismo una fuente de glucosa fácilmente disponible. Las reservas de glucógeno se agotan en la insuficiencia hepática severa (asociada con cirrosis o anomalías vasculares) y pueden predisponer a la hipoglucemia. La deficiencia puede ser acentuada por la disminución en la ingesta de alimentos que agota más la reserva de glucógeno ya insuficiente.

HEPATOPATIA CRONICA La hepatitis crónica se describe como un grupo heterogéneo de enfermedades en las cuales se producen cambios inflamatorios y necróticos, acompañado de cirrosis o sin ella, y llevan finalmente a la insuficiencia del órgano. La Hepatitis Crónica (HC) se refiere a un síndrome que antes se ha identificado con varios nombres (p.ej. Hepatitis crónica activa, hepatitis crónica persistente, hepatitis lobulillar crónica). En la HC hay necrosis hepatocelular que se asocia a una inflamación predominantemente linfoplasmocítica que normalmente progresa a fibrosis y/o cirrosis. Se han propuesto muchas causas posibles de la enfermedad, se destacan la hepatitis familiar en el Beldington terrier, Terrier blanco de west highland, Skye terrier, Doberman, y se especula en el Labrador retriever y Cocker spaniel. En las tres primeras se confirmó la presencia de cobre en altas concentraciones en el hígado (calcosis hepática) éste es tóxico para el mismo. Aún se discute si en el Doberman, el cobre que se acumula en esta raza provoca la enfermedad o es consecuencia de la colestasis que se establece en el curso de la misma. Los procesos infecciosos pueden ser causa de la patología, se mencionan la hepatitis infecciosa canina, la hepatitis de células acidófilas causada aparentemente por un virus (reportada en Gran Bretaña) y la leptospirosis. Muchos medicamentos pueden dañar el hígado se ha observado el mismo con el uso de una combinación antiparasitaria de dietilcarbamacina + oxicendazol, los anticonvulsivantes donde se destaca el fenobarbital, los glucocorticoides (hepatitis esteroidea), y la trimetoprim-sulfa. En la hepatitis esteroide se acumula anormalmente glucógeno en el hígado (no es un proceso necroinflamatorio) y es discutible la importancia de su impacto clínico. Entre las de causa desconocida se destacan las idiopáticas: la hepatitis disecante lobulillar, la fibrosis hepática, y la hepatitis crónica idiopática. La IH Crónica es una patología mucho más frecuente que la IH Aguda - Fisiopatología: Cuando una noxa actúa sobre el hígado (fármacos, virus, bacterias, metales, reacciones inmunológicas) se produce una lesión hepatocelular. Luego de la misma comienza la regeneración y la morfología y función pueden normalizarse si la noxa desaparece. Cuando la noxa persiste provoca una reacción inflamatoria cuya secuela es una hepatitis aguda, subaguda o crónica. Estas consecuencias tienden a persistir cuando el agente lesivo continúa con sus efectos. Sin injuria adicional por virus, drogas o toxinas, es posible la restauración estructural hepática. En algunos casos la patología progresa a pesar de haber eliminado la causa. El mecanismo por el cual se produce la continuidad e intensificación del proceso en la hepatitis crónica se desconoce pero se la puede conjeturar a partir de la naturaleza de los cambios histopatológicos. El tipo celular inflamatorio predominante en la HC es el linfocito, el cual asociado a los plasmocitos participarían en una función inmunomediada que perpetúa el proceso, prescindiendo de la causa inicial.

Patogenia. Cuando la noxa inicial actúa sobre el hígado provoca una lesión en los hepatocitos, dejando expuestos al sistema inmune sistémico una serie de antígenos que hasta el momento de dañarse las células permanecían ocultos de la vigilancia inmunológica (Determinante críptico expuesto). Esto provoca una infiltración inflamatoria linfoplasmocítica del área portal. Se comprobó que los plasmocitos que infiltran el hígado pueden sintetizar anticuerpos dirigidos contra esos antígenos hepatoespecíficos que permanecían ocultos al sistema inmunológico. Las células plasmáticas y linfocitos que penetran por el área portal causan necrosis de la membrana limitante permitiendo que el proceso se extienda dentro del parénquima hepático.

El daño de la estructura hepática abre rutas para que las células inflamatorias migren desde las áreas portales. Las células inflamatorias causan necrosis hepatocelular, que crea un espacio (es decir, pérdida de hepatocitos) que se rellena con más células inflamatorias. La respuesta del hígado ante la necrosis consiste en producir hepatocitos y epitelio en el conducto biliar. Cuando la arquitectura hepática no es destruida es posible la regeneración. Sin embargo las células inflamatorias liberan una serie de sustancias que atraen a las células productoras de colágeno. El colágeno se deposita en adyacencias de los hepatocitos a lo largo de los márgenes portales del lobulillo y en los tabiques de la inflamación que se propaga desde las áreas portales hasta las venas centrales. Una acumulación anormal de colágeno en el hígado sin pérdida de la arquitectura normal se denomina fibrosis.

Este proceso es potencialmente reversible y está asociado a una colagenasa presente en las células de Kupffer que exhibe hiperactividad en la fibrosis hepática. La cirrosis es una fibrosis avanzada donde se pierde la arquitectura hepática normal. La anormalidad principal de la cirrosis hepática es la presencia de fibrosis, que consiste en el depósito de fibras de colágeno en el hígado, pero para que se pueda hacer el diagnóstico anatomopatológico de cirrosis, este acúmulo de fibras ha de delimitar nódulos (nódulos regenerativos con desorganización estructural), es decir, aislar áreas de tejido hepático, alterando la arquitectura del órgano y dificultando la relación entre los hepatocitos y los finos vasos sanguíneos a través de los cuales ejercen su función de síntesis y depuración y a través de los cuales se nutren. A diferencia de la fibrosis, la cirrosis es un proceso irreversible. (1)

D) ANTECEDENTES

Cuando las células del hígado se inflaman de forma crónica (por ejemplo, por la infección de un virus o por el alcohol) se produce un tejido más fibroso parecido a una cicatriz. A medida que las células del hígado son sustituidas por este tejido, se vuelve más rígido y disminuye la capacidad normal de funcionamiento. De la extensión de esta fibrosis depende el pronóstico y la gravedad de la enfermedad hepática. Hasta ahora la única técnica para determinar el grado de fibrosis era la biopsia hepática (una punción para obtener un trozo de tejido hepático). Sin embargo, se trata de una técnica invasiva que requiere ingreso hospitalario y que en algunos casos puede tener complicaciones. (2)

Actualmente, gracias a los avances de las técnicas de imagen, se ha desarrollado una nueva técnica basada en la evaluación de la elasticidad o rigidez hepática llamada elastografía transitoria (Fibroscan®). Esta técnica permite medir la dureza y cuantificar la fibrosis hepática de manera sencilla y totalmente indolora mediante ultrasonidos, el resultado se obtiene de forma inmediata y se puede repetir periódicamente de forma segura. El Fibroscan® funciona de manera similar a un aparato de ecografía, dispone de una sonda emisora-receptora que emite dos tipos de ondas:

- Una onda pulsátil vibratoria que penetra en el tejido hepático.
- Una onda de ultrasonidos que capta la velocidad a la que se propaga la primera onda.
- La máquina procesa la información y genera en una pantalla de video una imagen correspondiente a la onda elástica con un valor de rigidez hepática medido en kilopascales (kPa).

Si la onda vibratoria viaja lentamente quiere decir que el tejido del hígado es elástico, si la onda viaja rápido quiere decir que el hígado es poco elástico o existe fibrosis por lo que el valor final es alto. (2)

Es por eso importante disponer de técnicas de laboratorio no invasivas que nos permitan evaluar la integridad y funcionalidad del órgano

Actualmente los diagnósticos basados en la imagenología ha sido una herramienta indispensable y factible en la medicina veterinaria, ya que permite realizar un diagnóstico temprano y certero de las diferentes patologías que afectan a los animales domésticos, ya que las imágenes ecográficas se basan en la producción de ondas a partir de los cristales piezoeléctricos que se producen de la sonda del ecógrafo; del cual estas ondas atraviesan los tejidos y se regresa emitiendo una señal acústica que es transformada por los cristales en señal eléctrica. Ésta, una vez analizada por el ecógrafo se traducirá en una imagen en la pantalla del tejido en cuestión, permitiendo la visualización de cortes tomográficos de órganos y tejidos, logrando valorar situación, tamaño, forma, extensión, delimitación y arquitectura interna.

Por ello la ecografía, es una técnica inocua, no invasiva y bien tolerada por los animales no sedados que no requiere de mayores preparaciones, sólo se necesita que el paciente tenga un ayuno mínimo de ocho horas y que haya tomado suficiente cantidad de líquido sin orinar.

¿Qué es la elastografía?

La elastografía es una técnica de toma de imágenes médicas no invasiva que ayuda a determinar la rigidez de los órganos y otras estructuras en su cuerpo. Se utiliza comúnmente para evaluar el hígado. La elastografía envía vibraciones de baja frecuencia indoloras hacia el interior del hígado. El ultrasonido (US) o la resonancia magnética nuclear (RMN) miden cuán rápidamente estas vibraciones se mueven a través del órgano. Una computadora utiliza esta información para crear un mapa visual que muestra la rigidez (o elasticidad) del hígado. La presencia de tejido rígido en el hígado generalmente es señal de la presencia de una enfermedad. La enfermedad del hígado puede causar una acumulación de tejido cicatrizal (***fibrosis***). Las personas con fibrosis hepática no siempre presentan síntomas. Si se la deja sin tratar, la fibrosis hepática puede avanzar hacia una condición más grave denominada *cirrosis*. La cirrosis puede afectar severamente la función de su hígado, y puede ser fatal.

Se podría utilizar la elastografía, en vez de la *biopsia*, para evaluar si usted tiene enfermedad del hígado. Durante una biopsia del hígado se utiliza una aguja para obtener una pequeña muestra de su hígado para su evaluación bajo el microscopio.

Cuáles son algunos de los usos comunes del procedimiento?

Se utiliza la elastografía para evaluar la presencia de enfermedad en el hígado. La técnica puede:

- detectar y evaluar cuán severa es la enfermedad del hígado
- guiar las decisiones de tratamiento
- monitorear la respuesta al tratamiento
- guiar o reemplazar una biopsia de hígado
- ayudar a predecir el riesgo de complicaciones de la enfermedad del hígado, tales como la acumulación de líquidos en el abdomen (ascitis).

También se utiliza la elastografía para diagnosticar condiciones en otros órganos tales como los senos, la tiroides y la próstata. Se utiliza para evaluar la condición de los músculos y los tendones.

Elastografía por RMN

La unidad de RMN tradicional es un gran tubo de forma cilíndrica rodeado por un imán circular. Usted deberá recostarse sobre la mesa de examen que se desliza adentro de un tunel hacia el centro del imán.

Algunas unidades de RMN, denominadas sistemas de diámetro interior corto, están diseñadas para que el imán no lo rodee completamente. Algunas máquinas más modernas de RMN tienen un diámetro más grande que puede resultar más cómodo para los pacientes de talla más grande, o para aquellos con claustrofobia. Las unidades de RMN abiertas pueden proporcionar imágenes de alta calidad para muchos tipos de exámenes. Los equipos de RMN abiertos podrían no ser utilizados para ciertos tipos de exámenes. Para más información consulte a su radiólogo.

Actualmente no se puede realizar una elastografía por RMN utilizando la máquina abierta de RMN.

Elastografía por ultrasonido

Las máquinas de ultrasonido están compuestas por una computadora y un monitor de video unidos a un transductor. El transductor es un dispositivo portátil pequeño que parece un micrófono. Algunos exámenes podrían utilizar diferentes tipos de transductores (con capacidades diferentes) durante un mismo examen.

El transductor envía ondas sonoras de alta frecuencia inaudibles hacia adentro del cuerpo y capta los ecos de retorno. Los mismos principios se aplican al sonar utilizado por barcos y submarinos.

El tecnólogo aplica una pequeña cantidad de gel en el área bajo examinación y coloca allí el transductor. El gel permite que las ondas sonoras viajen de ida y vuelta entre el transductor y el área bajo examinación. La imagen por ultrasonido se puede ver inmediatamente en un monitor. La computadora crea la imagen en base al volumen (amplitud), el tono (frecuencia) y el tiempo que le lleva a la señal de ultrasonido volver hacia el transductor.

¿Cómo es el procedimiento?

Se coloca una sonda de ultrasonido (US) o un transductor de RMN en la superficie de la piel. La sonda o transductor envía vibraciones de baja frecuencia indoloras a través del cuerpo hacia el órgano que está siendo examinado. Por lo general es el hígado. Las imágenes por RMN o US miden y graban cuán rápidamente se mueven las vibraciones a través del órgano. Una computadora utiliza esta información para crear un mapa visual mostrando la rigidez (o elasticidad) del órgano.

Elastografía por ultrasonido

Las imágenes por ultrasonido utilizan los mismos principios del sonar que los murciélagos, los barcos y los pescadores utilizan. Cuando una onda acústica choca contra un objeto, rebota o genera un eco. Al medir estas ondas causadas por el eco es posible determinar la distancia a la que se encuentra el objeto así como su forma, tamaño y consistencia. Esto incluye si se trata de un objeto sólido o que contiene fluido.

Los médicos utilizan el ultrasonido para detectar cambios en el aspecto y función de los órganos, tejidos y vasos, o para detectar masas anormales como los tumores.

En un examen por ultrasonido, un transductor envía las ondas sonoras y recibe las ondas del eco (retorno). Cuando se presiona el transductor contra la piel, envía pequeños pulsos de ondas acústicas de alta frecuencia inaudibles hacia el interior del cuerpo. A medida que las ondas acústicas rebotan en los órganos internos, fluidos y tejidos, el receptor sensible del transductor registra cambios mínimos que se producen en el tono y dirección del sonido. Una computadora mide instantáneamente estas ondas características y las despliega en un monitor como imágenes en tiempo real. El tecnólogo generalmente captura uno o más cuadros de las imágenes en movimiento en forma de imágenes estáticas. También podrían grabar videos cortos de las imágenes.

Elastografía por RMN

A diferencia de los exámenes convencionales de rayos X y los de exploración por tomografía computarizada (TC), la RMN no utiliza radiación. En cambio, ondas de radiofrecuencia realinean los átomos de hidrógeno que existen naturalmente adentro del cuerpo. Esto no causa ningún cambio químico en los tejidos. A medida que los átomos de hidrógeno regresan a su alineamiento habitual, emiten diferentes cantidades de energía dependiendo del tipo de tejido del cuerpo en el que se encuentren. El explorador de RMN captura esta energía y crea una fotografía utilizando esta información.

En la mayoría de las unidades de RMN el campo magnético se produce al pasar una corriente eléctrica a través de las bobinas de cable. Otras bobinas están adentro de la máquina y, en algunos casos, se las ubica alrededor de la parte del cuerpo de la que se están adquiriendo imágenes. Estas bobinas emiten y reciben ondas de radio, produciendo señales que son detectadas por la máquina. La corriente eléctrica no entra en contacto con el paciente.

Una computadora procesa las señales y crea una serie de imágenes, cada una de las cuales muestra una fina tajada del cuerpo. El radiólogo puede estudiar estas imágenes desde diferentes ángulos.

La RMN a menudo tiene una mejor capacidad para diferenciar entre el tejido enfermo y el tejido normal que los rayos-X, la TC y el ultrasonido.

Elastografía por ultrasonido

El tecnólogo aplica un gel claro a base de agua en el área que se está examinando. Esto ayuda a que el transductor haga contacto en forma segura con el cuerpo. También ayuda a eliminar las cavidades con aire entre el transductor y la piel que podrían bloquear el paso de las ondas de sonido adentro de su cuerpo. El tecnólogo o el radiólogo coloca el transductor contra la piel en varios lugares, desplazándolo sobre el área de interés. También podrían inclinar el ángulo del haz de sonido hacia una posición diferente para observar mejor el área de interés.

Para una elastografía del hígado, la sonda se coloca entre las costillas en el lado derecho de la pared inferior del tórax. Se envía una serie de 10 vibraciones indoloras a través del cuerpo hacia el hígado. Completar la parte de un examen por ultrasonido que corresponde a la elastografía, por lo general, sólo lleva cinco minutos. No obstante, se la puede hacer como parte de un ultrasonido estándar del hígado o del abdomen, en cuyo caso completarla podría llevar alrededor de 30 minutos.

Elastografía por RMN

El tecnólogo lo ubicará en la camilla móvil de examen. Podrían usar correas y refuerzos para ayudarlo a permanecer inmóvil y mantener su posición.

Para la elastografía del hígado se coloca una pequeña pieza de equipo, denominada transductor, en la superficie de su piel del lado derecho de la pared inferior de su tórax. Se podrían colocar alrededor o al lado del área unos aparatos pequeños que contienen bobinas capaces de enviar y recibir ondas de radio. Lo colocarán dentro del imán de la unidad de RMN. El radiólogo y el tecnólogo llevarán a cabo el examen mientras trabajan desde una computadora que se encuentra afuera de la sala. Mientras contiene su respiración, el transductor envía pequeñas vibraciones hacia su hígado.

La elastografía por RMN lleva menos de cinco minutos, pero se la hace generalmente como parte de un examen estándar de RMN. Una RMN del hígado se completa generalmente en unos 45 minutos.

El advenimiento de la ecografía como método rutinario para la exploración de las enfermedades hepáticas ha permitido ampliar el campo de las técnicas exploratorias del hígado. Al ser un método inocuo y de alta fiabilidad, se ha situado en primer lugar entre los diferentes procedimientos diagnósticos, complementando la radiografía y el laboratorio bioquímico .

Por otra parte, la ecografía intervencionista permite la obtención de biopsias de lesiones hepáticas dirigidas por ultrasonido y facilita la aproximación al diagnóstico etiológico .

Para la ejecución e interpretación de las imágenes registradas se requiere una combinación de pericia técnica y experiencia. Algunos diagnósticos se efectúan con rapidez y seguridad, otros requieren la comparación de imágenes en exámenes secuenciales. La ultrasonografía brinda información referida a alteraciones estructurales que afectan al hígado. Normalmente el parénquima hepático tiene una ecogenicidad homogénea de nivel medio, comparada con la de corteza renal y bazo , siendo posible distinguir con relativa facilidad las estructuras ocupadas con líquido de aquellas con tejido blando y sólido, como así también la visualización de anomalías en la vesícula biliar, vasos hepáticos y órganos adyacentes.

Las alteraciones difusas que afectan al hígado se pueden manifestar con un aumento de la ecogenicidad (hiperecogenicidad), como en los casos de hepatopatía esteroide y lipidosis, o con una disminución (hipoecogenicidad) observada en la congestión pasiva, linfoma y hepatitis supurativa. Otra de las ventajas de la ultrasonografía es que permite diferenciar entre ictericia obstructiva y no obstructiva mediante la evaluación de la permeabilidad de los canalículos biliares. Con respecto al tamaño hepático, la ecografía puede distinguir entre hepatomegalia y masas adyacentes al hígado originadas en órganos vecinos. Puede demostrar variantes anatómicas como el aumento de volumen de un hígado normal.

Cuando existe una auténtica hepatomegalia la ecografía permite diferenciar entre obstrucción biliar y congestión hepática; en esta última resaltará la distensión de las venas hepáticas y la cava inferior .

Se ha demostrado que la ecografía presenta limitaciones en cuanto a especificidad y sensibilidad para discernir entre las distintas alteraciones del parénquima hepático. Existe un límite potencial para la realización de un diagnóstico específico basado solamente en las características eco-texturales de la lesión. Por ejemplo, la hiperplasia nodular, una lesión sin importancia relacionada con la edad, puede asemejarse a una neoplasia. Alteraciones difusas e infiltrativas como las del linfoma pueden pasar desapercibidas porque no alteran la estructura del órgano y muchas veces se manifiestan solamente por variaciones de ecogenicidad, compatibles con otras patologías que afectan a este órgano. En estos casos la utilidad de la ecografía es la de ser una herramienta que permite llegar a un sector determinado del órgano, guiando y optimizando la toma de muestra para citología o histopatología. (4)

E) MARCO DE REFERENCIA

HIPOTESIS

Si la inflamación crónica del tejido hepático producida por una infección, produce tejido fibroso, entonces se verá disminuida la capacidad de funcionamiento del tejido y por lo tanto del órgano, que puede ser diagnosticado mediante el uso de la ecografía (elastografía)

OBJETIVOS

1. Demostrar la capacidad Diagnóstica de la Elastografía, sin ser una técnica invasiva
2. Determinar la gravedad de la enfermedad de acuerdo a la extensión de la fibrosis (parámetros), mediante el uso de la Elastografía

F) MATERIAL Y/O MÉTODOS

Existen 2 clases de sonoelastografía bien diferenciadas: la semicuantitativa (strain elastography) y la cuantitativa (shear-wave elastography). La elastosonografía semicuantitativa adquiere primero los datos correspondientes a la anatomía tisular antes de la deformación o compresión. Posteriormente se aplica una pequeña presión mediante un compresor externo (transductor ecográfico) o una función fisiológica (respiración) y se adquiere otro mapa de la anatomía tisular (poscompresión o deformación). El desplazamiento del tejido deformado se calcula mediante la comparación de estos 2 mapas anatómicos y se refleja en un mapa de colores. La elastosonografía cuantitativa mide el desplazamiento del tejido independientemente de la presión aplicada, al enviar microimpulsos acústicos con niveles mínimos de energía hacia los diferentes tejidos. De esta manera, se crea un mapa tisular relativo al desplazamiento de las estructuras adyacentes. La ventaja de esta con respecto a la anterior es obvia: no hay necesidad de comprimir con el transductor, por lo que existe menos variabilidad intra e interobservador, es decir, mayor reproducibilidad. Dentro de la elastosonografía cuantitativa podemos distinguir 3 subgrupos de imágenes: la «cualitativa», que nos ofrece un mapa de colores de la lesión con respecto al tejido adyacente, la «cuantitativa», que nos da un valor en kPa o m/s que nos proporciona valores numéricos acerca de la mayor o menor deformidad en una región de interés elegida por nosotros, y un último subgrupo que combina en una misma imagen las 2 anteriores, es decir, sobre un mapa cualitativo de colores podemos medir el valor de dureza del tejido en una región de interés.

Del total de caninos que asistieron a consultorios externos del Hospital de Clínicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE (Corrientes, Argentina) durante el período comprendido entre febrero de 2007 y noviembre de 2009 ($n = 14.627$), el 7% de ellos ($n = 995$) fue derivado al Servicio de Ecografía. De ese total, 52 pacientes fueron involucrados como sospechosos de padecer alteraciones hepáticas, considerando sus historias clínicas, síntomas y pruebas de laboratorio. Los caninos, de ambos sexos y diferentes razas y edades, se presentaron con un ayuno sólido de 12 horas y dos horas de retención de orina. La preparación del paciente se realizó mediante un rasurado desde caudal de la apófisis xifoidea del esternón, en una zona de 10 cm de ancho. Para el estudio ecográfico se utilizó un equipo Berger 2010 y transductores convexos, microconvexos y lineales, con frecuencias de 5, 6 y 7,5 mhz. Para homogenizar el contacto de la sonda con la zona rasurada se aplicó un gel de acoplamiento acústico en la piel. Los animales fueron posicionados sobre una mesa en decúbito lateral o dorsal y en algunos casos de pie. La técnica de exploración se inició con un barrido completo del abdomen y prosiguió con la investigación del hígado, para lo cual se utilizaron distintas vías de abordaje: por debajo del hipocondrio, mediante cortes transversales y longitudinales y en algunos casos mediante abordajes intercostales. Las imágenes observadas fueron clasificadas considerando el tamaño, vascularización, características del parénquima, vías biliares, vesícula y relación del hígado con otros órganos. Cuando se consideraron necesarias, se efectuaron punciones percutáneas con aguja para la obtención de muestras citológicas del hígado, previa verificación del tiempo de coagulación.

G) RESULTADOS Y H) DISCUSIÓN

El estudio representativo de la técnica mencionada incluye a 52 pacientes sospechosos de padecer enfermedades hepáticas, el 27% ($n = 14$) presentó alteraciones exclusivamente en el hígado y el 73% restante ($n = 38$) presentó alteraciones tanto en hígado como en otros órganos. Teniendo en cuenta que estos caninos fueron incluidos por sospecha de enfermedad hepática, el hallazgo de un alto número de compromiso de dos o más órganos señala la utilidad de la ecografía para excluir el diagnóstico de enfermedad hepática única y ampliarlo a otras patologías abdominales, en coincidencia con las aseveraciones de otros autores. La exploración de otros órganos como bazo, páncreas, riñones, glándulas adrenales y linfonódulos es necesaria para determinar las relaciones anatómicas y poder distinguir entre hepatomegalia y masas adyacentes al hígado originadas en órganos vecinos, como linfoma, tumores renales y adrenales. Si bien la ecografía no es el mejor método para determinar el tamaño hepático, en la casuística investigada existieron más casos de aumentos que de disminuciones. Cabe destacar que cuando existe una auténtica hepatomegalia, la ecografía permite diferenciar entre un hígado congestivo, de la hepatomegalia que resulta de la obstrucción biliar. La hepatomegalia secundaria a tumores hepáticos, infiltraciones, enfermedades infecciosas localizadas o traumáticas, también pueden ser caracterizadas a partir de la imagen ecográfica. En la evaluación del parénquima hepático debe tenerse en cuenta su ecogenicidad, que es la suma de la amplitud (tamaño de los ecos) más la distancia que existe entre ellos (densidad ecográfica). La ecogenicidad del parénquima del hígado, por lo general es igual o mayor que la de la corteza renal y menor que la del bazo. En el presente trabajo hemos observado una mayor cantidad de casos con alteraciones hiperecogénicas, hallazgos compatibles con sospecha clínica de hepatopatía esteroide, hepatitis crónica y lipidosis. Los patrones mixtos, donde la ecogenicidad está alterada en distintas proporciones, ocurren en algunas inflamaciones difusas, tóxicas o neoplasias, siendo difícil determinar si lo anormal es la mayor o la menor ecogenicidad. Las alteraciones hipoecogénicas se registraron en menor porcentaje; este patrón ha sido reportado tanto en perros como en gatos con procesos infiltrativos difusos tales como linfomas, leucemia y amiloidosis. Para algunos autores, una de las principales razones para el uso de la ultrasonografía en la evaluación de la enfermedad hepática es

diferenciar los procesos locales de los difusos. Debe destacarse que en la presente compilación se registró mayor número de pacientes con anomalías ecogénicas difusas (81%) que focales.

8

En las hepatopatías difusas se debe considerar la estructura del parénquima, la cual puede ser homogénea (cuando los ecos se distribuyen regular y uniformemente) o heterogéneas (cuando se distribuyen irregularmente). La casuística aquí estudiada indica la existencia de mayor número de pacientes que presentaron estructura heterogénea que homogénea. En la identificación de anomalías del parénquima hepático, tracto biliar y sistema vascular, la ecografía ha llegado a ser una herramienta esencial y, en algunos casos, ha reemplazado a la radiografía como procedimiento. Respecto a la relación del hígado con las patologías de la vesícula biliar, estas últimas fueron registradas en 7 de los 52 pacientes con hepatopatías, lo que representa un 13%. Las alteraciones de las vías biliares pueden ser extrahepáticas, donde se observa una marcada distensión de la vesícula biliar acompañada por un cuello tortuoso y dilatado; o intrahepática, como es el caso de la colecistitis. Si bien con ecografía convencional es posible detectar algunas alteraciones vasculares, es en este punto donde el doppler color (ecodoppler) ha desplazado a la ultrasonografía, aportando imágenes de precisión que permiten evaluar no solo la vasculatura sino también la circulación, teniendo en cuenta la estructura de los vasos, la presión sanguínea y el flujo sanguíneo. No obstante, trabajando con ecografía convencional, hemos podido detectar 14 pacientes con trastornos vasculares. La mayoría de los pacientes presentaron congestión pasiva asociada con insuficiencia cardíaca derecha y distensión vascular. Los alcances de la ecografía hepática se ampliarían notablemente con el uso de ultrasonografía de contraste o técnicas de ecodoppler. El desarrollo tecnológico de los ecógrafos ha condicionado tanto la precisión diagnóstica de esta técnica como la habilidad clínica para el diagnóstico, siendo una herramienta práctica y segura para los pacientes. Gracias a la ecografía, ahora se pueden considerar enfermedades tales como la colecistitis o colangitis en el diagnóstico diferencial de ictericia, o pueden efectuarse diagnósticos tempranos (algunas veces azarosos) de masas hepáticas cuando examinamos el hígado de un perro con alteraciones bioquímicas y sin sintomatología específica. No obstante, se ha demostrado la existencia de dos grandes limitaciones de la ecografía con respecto a las alteraciones del parénquima hepático:

con frecuencia depende de los resultados de la biopsia hepática. Se postula que para mejorar la eficacia diagnóstica de la ultrasonografía hepática se necesitaría un protocolo estandarizado de investigación. Esto incluiría pautas como selección de la frecuencia óptima del transductor teniendo en cuenta el tamaño del paciente, realización de una observación cuidadosa del parénquima hepático y compararlo con el bazo y la corteza renal, evaluación meticulosa del abdomen, linfonódulos, área pancreática y resto de las estructuras abdominales relacionadas.

A continuación tenemos los parámetros de medición que se utilizan al análisis de alteraciones hepáticas en humanos, recordando y tomando en cuenta que muchos de los aparatos de uso humano han sido adaptados y/o calibrados para su uso en medicina Veterinaria, y así poder obtener resultados tanto cualitativos como cuantitativos

FibroScan es un tipo de elastografía hepática. FibroScan es una tecnología de ultrasonido especial que mide la rigidez del hígado (dureza) y los cambios grasos en el hígado. Estas medidas ayudarán a su proveedor de cuidados de la salud a averiguar más sobre su enfermedad hepática. (7)

Estos son algunos términos útiles que debe conocer en relación con los resultados de FibroScan:

Fibrosis: cicatrices en el hígado.

Rigidez del hígado: dureza del hígado relacionada con las cicatrices del hígado.

Cambios grasos: una acumulación anormal de grasa en el hígado.

Esteatosis: una afección causada por tener demasiada grasa en el hígado.

9

Puntuación CAP: la forma en que se mide el porcentaje de cambio graso en su hígado.

La fibrosis y la esteatosis se miden por separado.

La puntuación CAP se mide en decibeles por metro (dB/m). Esta puntuación fluctúa entre los 100 y los 400 dB/m. Su puntuación CAP y el grado de esteatosis pueden aumentar o disminuir con el tiempo.

La siguiente tabla muestra los intervalos de puntuaciones CAP y su correspondiente grado de esteatosis. Muestra cuánto de su hígado se ve afectado por la acumulación de grasa. Los hígados normales pueden tener hasta un 5 % de cambios grasos en ellos. Una puntuación por debajo de 238 dB/m significa que la cantidad de cambio graso en el hígado no es más alta de lo normal.

Información sobre su resultado de rigidez del hígado

Puntuación CAP	Grado de esteatosis	Parte del hígado afecta por cambios grasos
238 a 260 dB/m	S1	Menos de $\frac{1}{3}$ (11 % a 33 %)
260 a 290 dB/m	S2	Entre $\frac{1}{3}$ y $\frac{2}{3}$ (34 % a 66 %)
290 a 400 dB/m	S3	Más de $\frac{2}{3}$ (67 %)

El resultado de la rigidez del hígado se mide en kilopascales (kPa). Los resultados normales suelen estar entre 2 y 7 kPa. Su resultado puede ser más alto que el rango normal si tiene una enfermedad hepática. El resultado más alto posible es de 75 kPa.

Uso del resultado de la rigidez del hígado para encontrar su puntuación de fibrosis.

Normal: esto significa que no hay cicatrices en el hígado o que las que hay son leves.
Moderada y grave: esta es una cicatrización del hígado que se puede revertir (deshacer) si se trata la

10

enfermedad hepática. Una buena nutrición y cambios saludables en el estilo de vida también pueden retrasar o revertir la acumulación de cicatrices en el hígado. Es posible que no tenga ningún síntoma de cicatrización moderada del hígado.
Avanzada: la cirrosis es una forma tardía de cicatrización hepática avanzada. Esto sucede con el tiempo en la enfermedad hepática crónica.

Debe usar la tabla de la siguiente manera:

Encuentre la enfermedad hepática que tiene en la primera columna de la izquierda.
Encuentre el resultado de la rigidez del hígado en la segunda columna de la izquierda. Siga la fila que tenga sus resultados. Los intervalos de puntuaciones de rigidez hepática de la tabla son estimaciones (no exactas).
Lea el resto de esa fila de izquierda a derecha. Encontrará su puntuación de fibrosis en la tercera columna de la izquierda. La última columna le dice cuánta cicatrización tiene su hígado.

Diagnóstico de enfermedad	Resultado de rigidez hepática	Puntuación de fibrosis	El hígado
Enfermedad relacionada con el alcohol	2 a 7 kPa	F0 a F1	Es normal.
	7 a 11 kPa	F2	Tiene cicatrices moderadas.

	11 a 19 kPa	F3	Tiene cicatrices graves.
	19 kPa o más	F4	Tiene cirrosis.
Enfermedad colestática	2 a 7 kPa	F0 a F1	Es normal.
	7 a 9 kPa	F2	Tiene cicatrices moderadas.
	9 a 17 kPa	F3	Tiene cicatrices graves.
	17 kPa o más	F4	Tiene cirrosis.
Hepatitis B	2 a 7 kPa	F0 a F1	Es normal.
	8 a 9 kPa	F2	Tiene cicatrices moderadas.

	8 a 11 kPa	F3	Tiene cicatrices graves.
	12 kPa o más	F4	Tiene cirrosis.
Hepatitis C	2 a 7 kPa	F0 a F1	Es normal.
	8 a 9 kPa	F2	Tiene cicatrices moderadas.
	9 a 14 kPa	F3	Tiene cicatrices graves.
	14 kPa o más	F4	Tiene cirrosis.
Coinfección de HIV/HCV	2 a 7 kPa	F0 a F1	Es normal.
	7 a 11 kPa	F2	Tiene cicatrices moderadas.

	11 a 14 kPa	F3	Tiene cicatrices graves.
	14 kPa o más	F4	Tiene cirrosis.
Esteatohepatitis no alcohólica (NAFLD o NASH)	2 a 7 kPa	F0 a F1	Es normal.
	7.5 a 10 kPa	F2	Tiene cicatrices moderadas.
	10 a 14 kPa	F3	Tiene cicatrices graves.
	14 kPa o más	F4	Tiene cirrosis.

Trastornos que pueden afectar sus resultados de fibrosis

Ciertas afecciones pueden causar un resultado de rigidez del hígado demasiado alto, lo que lo hace incorrecto. Es posible que tenga menos cicatrices de lo que sugieren los resultados. Eso puede suceder si usted tiene:

Inflamación (hinchazón) del hígado: Esto puede ser causado por una enfermedad hepática reciente. También puede ser causado por el consumo excesivo de alcohol a largo plazo.

Tumores benignos (no es cáncer) o cancerosos (cáncer) en el hígado.

Congestión hepática: Esto significa que el hígado está demasiado lleno de sangre u otros líquidos. Eso normalmente es causado por insuficiencia cardíaca.

FibroScan puede dar resultados menos precisos o no dar ningún resultado si tiene:

Obesidad: esto significa que su índice de masa corporal (IMC) es superior a 30 (un valor alto y no saludable de grasa corporal).

Ascitis: acumulación de líquido en el estómago.

Obstrucción biliar: un bloqueo que no permite que salga suficiente bilis del hígado.

Tejido cicatricial: tejido de cirugía o radiación acumulado cerca del hígado. (7)

I) CONCLUSION.

Se destaca que la ultrasonografía hepática ha llegado a ser una de las herramientas diagnósticas esenciales para identificar anomalías del parénquima hepático, tracto biliar y sistema vascular. Con frecuencia depende de los resultados de la biopsia hepática. Se postula que para mejorar la eficacia diagnóstica de la ultrasonografía hepática se necesitaría un protocolo estandarizado de investigación. Esto incluiría pautas como selección de la frecuencia óptima del transductor teniendo en cuenta el tamaño del paciente, realización de una observación cuidadosa del parénquima hepático y compararlo con el bazo y la corteza renal, evaluación meticulosa del abdomen, linfonódulos, área pancreática y resto de las estructuras abdominales relacionadas. En conclusión, se destaca que la ultrasonografía hepática ha llegado a ser una de las herramientas diagnósticas esenciales para identificar anomalías del parénquima hepático, tracto biliar y sistema vascular. (4)

14

BIBLIOGRAFIA/CIBERGRAFIA

1. Bartres, Concepción, & Lens, Sabela. (2013). Elastografía hepática (Fibroscan®) en hepatología. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 105(4), 235. <https://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082013000400011>
2. Puig, Jordi (2020). Cómo abordar.....El perro con alteraciones de las enzimas hepáticas. *Revista Royal Canin*, No. edición 29.3 hepatología
3. Gutierrez, Murad & Romero enciso (2018) Elastografía hepática: ¿Qué es, cómo se hace y como se interpreta? *Sociedad española de radiología médica (SERAM)*, vol 60, Issue 3, May-june 2018, pag 183-189
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0033833817301911>
4. Lockett, M.B.1 ; Koscinczuk, P.2 ; Rosciani, A.S.3 ; Insfrán, R.M.3 ; Repetto, C.J.1
Diagnóstico ecográfico de afecciones hepáticas en caninos, Servicio de Ecografía del Hospital de Clínicas, Cátedra de Patología Médica, Servicio de Histopatología y Citología, Facultad de Ciencias Veterinarias, *Rev. vet.* 20;2, 92-96, 2009
<https://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/download/1856/1606/5181>
5. Espinoza P. V, Hernández R. J, Chow C.W
Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático
Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua
ISSN-e: 2410-7980

Periodicidad: Semestral

vol. 9, núm. 17, 2023, Editado por: E. A. Marinero-Orantes

<http://portal.amelica.org/ameli/journal/394/3943882008/html/>

6. F. Guzmán Aroca, D. Abellán Rivera y M. Reus Pintado*

La elastografía: una nueva aplicación de la ecografía. ¿Cuál es su utilidad clínica?

Servicio de Radiodiagnóstico, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Murcia, España
Radiología 2014; 56(4): 290-294 Elsevier

<https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdf-simple&pii=S0033833812002469&r=10>

7. Memorial Sloan Kettering Cancer Center

<https://www.mskcc.org/es/cancer-care/patient-education/understanding-your-fibroscan-results>

Detección e interpretación de fosfatasa alcalina inducida por esteroides en caninos.

Diplomado Medicina de Laboratorio Basada en la Evidencia, aplicada a la práctica Veterinaria.

PMVZ Liliana Andrea Reyes Arellano
Responsable: Dr. Guillermo Valdivia Anda
MDH MVZ Graciela Castañeda Aceves

7 de agosto de 2024

Índice

Detección e interpretación de fosfatasa alcalina inducida por esteroides en caninos.

1.	Introducción	3
----	--------------------	---

2.	Antecedentes	4
3.	Marco de referencia	6
4.	Material y métodos	9
5.	Resultados	12
6.	Discusión	14
7.	Conclusiones	16
8.	Referencias bibliográficas	17

Introducción

Breve descripción de la prueba.

La prueba de fosfatasa alcalina estimulada con esteroides en caninos es un análisis de laboratorio que mide la actividad de la enzima fosfatasa alcalina en la sangre de los perros. Después de la administración de esteroides. La fosfatasa alcalina es una enzima presente en varios tejidos del cuerpo, incluyendo el hígado, los huesos y los intestinos.

Esta prueba se utiliza para evaluar la función hepática y detectar enfermedades en caninos como la hepatitis, cirrosis, obstrucción, biliar y toxicidad hepática.

Los resultados se interpretan en conjunto con otros análisis y el historial clínico del perro. Un aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina puede indicar daño hepático o enfermedad hepática.

Esta prueba ofrece ventajas como ayudar a detectar enfermedades hepáticas en el perro, de manera temprana, también puede ser utilizada para monitorear la respuesta a tratamientos para enfermedades hepáticas, y es una prueba relativamente rápida y fácil de realizar.

Algunas de sus limitaciones incluyen que puede ser influenciada por factores como la edad, el sexo y la raza del perro, además no es específica para ninguna enfermedad en particular y requiere una interpretación cuidadosa en conjunto con otros análisis y el historial clínico del perro.

Importancia de la prueba en medicina veterinaria.

La importancia de la prueba de la fosfatasa alcalina inducida con esteroides en caninos radica en su capacidad para

1. Detectar enfermedades hepáticas: ayuda a identificar daño hepático o enfermedades como hepatitis, cirrosis, obstrucción biliar y toxicidad hepática
2. Monitorear la función hepática: permite evaluar la función hepática y monitorear la respuesta a tratamientos para enfermedades hepáticas
3. Diagnosticar problemas tempranos: permite detectar problemas hepáticos en etapas tempranas lo que permite ofrecer un tratamiento oportuno y eficaz
4. Ayuda en el diagnóstico diferencial: contribuye a diferenciar entre enfermedades del hígado y otras condiciones que pueden presentar signos similares
5. Monitorear la eficacia de tratamientos: permite evaluar la respuesta a tratamientos para enfermedades hepáticas y ajustar planes terapéuticos, según sea necesario para cada paciente
6. Identificar factores de riesgo: puede ayudar a identificar factores de riesgo para enfermedades hepáticas como la obesidad, la diabetes o la exposición toxinas
7. Mejorar la calidad de vida: al detectar y tratar enfermedades hepáticas de manera temprana, se puede mejorar la calidad de vida del paciente y prevenir complicaciones graves a futuro

En la clínica veterinaria se han buscado herramientas que ayuden al profesional en el diagnóstico de enfermedades que afectan distintos órganos. La enzimología busca determinar la actividad plasmática de enzimas para establecer la presencia de daño en algún tejido animal. Dentro de ellas el médico veterinario, dispone de algunas enzimas con

características particulares para cada especie, que auxilian en el diagnóstico clínico de las enfermedades del hígado.

En resumen, esta prueba es una herramienta valiosa para la detección y seguimiento de enfermedades hepáticas en caninos, lo cual permite un control eficaz y oportuno.

Objetivos del estudio

Observar las funciones de la prueba de fosfatasa alcalina, estimulada con esteroides en el diagnóstico de enfermedades hepáticas en caninos.

Observar la correlación entre los niveles de fosfatasa alcalina, estimulada con esteroides y la gravedad de la enfermedad hepática.

Observar la prueba de fosfatasa alcalina estimulada con esteroides en comparación con otras pruebas de función hepática en caninos.

Antecedentes

Prueba de fosfatasa alcalina inducida por esteroides

La prueba de fosfatasa alcalina inducida por esteroides en caninos. Es una prueba bioquímica que mide la actividad de la enzima en la sangre después de la administración de esteroides, generalmente cortisol o prednisolona. Esta prueba se usa para evaluar la función hepática y detectar algunas enfermedades.

La prueba se utiliza para evaluar la función hepática y detectar posibles problemas en el hígado. La estimulación con esteroides se utiliza para aumentar la sensibilidad de la prueba y detectar cambios útiles en la actividad de la enzima.

Esta prueba se desarrolló a partir de la observación de que el cortisol y los esteroides pueden influir en la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina en el hígado. A continuación se presentan algunos antecedentes clínicos que antecedieron al desarrollo de esta prueba A través del tiempo y su estudio:

1950: observaciones iniciales. Los investigadores determinan que los esteroides endógenos como el cortisol, podían aumentar la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina hepática de los animales.

1960. Se realizaron algunos estudios en humanos que demostraron que los esteroides endógenos podían influir en la actividad de la fosfatasa en el hígado. Se determinó que pacientes con enfermedades hepáticas. Tenían una respuesta alterada a los esteroides respecto a la fosfatasa alcalina (aumento)

1970. Se comenzaron a realizar investigaciones en caninos para evaluar la respuesta hepática a los esteroides exógenos. Se determinó que los caninos con enfermedades hepáticas presentaban respuestas alteradas a los esteroides respecto a la fosfatasa alcalina.

1980. Se desarrolla la prueba de la fosfatasa alcalina, incluida por esteroides en caninos. Diseñada para evaluar la función hepática y detectar enfermedades en caninos.

1990. Se da la validación y estandarización de la prueba. Se establecieron parámetros normales y se evalúa la sensibilidad y especificidad de la prueba.(Kass 2011)

Esta prueba se ha convertido en una herramienta valiosa para el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades hepáticas en caninos.

Marco de referencia

Recordatorio fisiológico.

El hígado es uno de los órganos más grandes del organismo y pesa del dos al 3% del peso corporal en los caninos.

El aporte sanguíneo el hígado procede en un 60-70% de la vena porta y el 30-40%, proviene de la arteria hepática.

El hígado tiene una enorme capacidad de reserva funcional: un 70-80% del mismo, debe ser extirpado antes de que el mismo manifieste alteraciones funcionales. Histológicamente el hígado está formado en un 60% por hepatocitos, que están agrupados radialmente en gruesas placas unicelulares alrededor de las venas hepáticas terminales, formando anatómicamente, las unidades hepáticas más pequeñas, los lobulillos. El lobulillo es la unidad anatómica funcional, es de forma hexagonal y se localiza alrededor de una vena central.

Algunas de las funciones que controla el hígado incluyen la regulación del catabolismo y anabolismo del organismo. Esto a través de enzimas. Cuando se da un daño en la membrana del hepatocito aumenta su permeabilidad de membrana y las enzimas se escapan hacia la sangre, las primeras en salir son las enzimas del citoplasma Las cuales llamamos enzimas de escape, enlistadas a continuación.

- ALT aspartato amino transferasa
- TGP transaminasa glutamico pirúvica
- FAS fosfatasa alcalina sérica
- LDH lactato, deshidrogenasa
- GGP gama glutamil transferasa
- SD Sorbitol deshidrogenasa

Fosfatasa alcalina.

Enzima altamente relacionada al daño hepático.

Esta enzima se encuentra principalmente en la membrana celular. Se encuentra en altas concentraciones en células de hueso, intestino, hígado, riñones y placenta. Posee una elevada actividad en tejidos que cumplen funciones de absorción y secreción. Esta enzima posee varias isoenzimas en distintos órganos del cuerpo, hepática, renal, intestinal, ósea y cardíaca. Además se ha reportado una su forma asociada a tumores malignos. Las distintas isoformas son meta enzimas que contienen zinc y tienen como cofactor el magnesio.

La fosfatasa alcalina es una enzima de importancia diagnóstica en enfermedades hepáticas y óseas en pequeños animales, especialmente en los caninos.

En el hígado se ubica principalmente en la membrana del canalículo biliar. La forma hepática es la que predomina en el plasma, un aumento de su actividad indica un daño. Hepatobiliar. La colestasis induce un aumento en la síntesis de la enzima, cuanto mayor es el grado de obstrucción biliar mayor es la actividad de la fosfatasa alcalina detectable en el plasma. Los aumentos más marcados son indicativos de colangitis, cirrosis biliar u obstrucción biliar.

Es una enzima de muy baja especificidad para la hepatopatías. Esta baja especificidad se asocia a la presencia de varias y su enzimas y una sensibilidad única a la inducción. Enzimática a los corticoides. El aumento de esta enzima es el resultado del incremento de la síntesis, la pérdida de la enzima desde la membrana celular o ambas.

La estimulación con corticosteroides eleva la actividad plasmática de la fosfatasa alcalina en unas 10 veces, mientras que enfermedades que afectan las células del parénquima hepático, producen un leve aumento transitorio en la actividad plasmática

Los corticoides, endógenos o exógenos, producen una inducción enzimática, incrementando la actividad plasmática de la fosfatasa alcalina, principalmente en perros, esta situación se observa en casos de hiperadrenocorticismo.

Las hembras gestantes pueden presentar un aumento de hasta el 300% sobre el rango de referencia, debido a la presencia de fosfatasa, alcalina en la placenta. Otras causas de incremento son retención, placentaria, tratamientos con esteroides, cefalosporinas, tetraciclinas, tiabendazol y halotano..(Noro, Witter 2004)

En el laboratorio clínico diario es muy común, utilizar las pruebas de fosfatasa alcalina para diagnosticar y observar. Tratamientos de enfermedades óseas y hepato-biliares. Además, como un marcador asociado a los tumores, la elevación de fosfatasa alcalina sérica, puede ser una herramienta que ayude para futuros diagnósticos, diferenciales e investigación clínica

Fisiología y mecanismo de acción de corticosteroides

Los corticosteroides se sintetizan en la zona glomerular y en la zona fascicular de las glándulas adrenales. Para poder llevar a cabo sus funciones. Los glucocorticoides se unen a los receptores que se expresan en la mayoría de las células, estos receptores se encuentran inactivos en el citoplasma celular hasta que se unen a su correspondiente ligando, lo que activa el receptor.

Son sustancias Lipofílicas y por lo tanto, penetran en la célula por difusión pasiva para unirse a su receptor citoplasmático. Glucocorticoides tienen funciones fisiológicas, muy diversas, Tales, como la estimulación de la gluconeogénesis, la lipólisis y el catabolismo proteico. Además, mantiene niveles adecuados de glucosa en la sangre para su utilización por el cerebro, regulan la presión arterial y tienen importantes efectos farmacológicos sobre el sistema inmune, incluidos efectos inmunosupresores, antiinflamatorios mediante la disminución de la producción de citocinas pro inflamatorias y disminución de la actividad y proliferación de linfocitos T.

Los esteroides, incluyendo el cortisol, pueden influir en la fosfatasa alcalina de varias maneras:

1. Inducción enzimática: los esteroides pueden inducir la síntesis de la fosfatasa, alcalina en el hígado, por lo que resulta un aumento en su actividad enzimática.
2. Regulación de la expresión genética: los esteroides pueden regular la expresión del gen que codifica la fosfatasa alcalina, lo que afecta la cantidad de la enzima producida.

3. Activación de la enzima: los esteroides pueden activar la fosfatasa alcalina ya existente, lo que aumenta su actividad.
4. Inhibición de la degradación: los esteroides inhiben la degradación de la fosfatasa alcalina, lo que prolonga la vida útil y aumenta su actividad.
5. Efectos en la distribución: los esteroides influyen en la distribución de la fosfatasa, alcalina en el cuerpo, lo que afecta su actividad en diferentes tejidos.

Los esteroides, el cortisol y otros glucocorticoides pueden tener efectos diferentes en la fosfatasa alcalina dependiendo de su tipo y concentración. Por ejemplo, el cortisol puede inducir la síntesis de fosfatasa, alcalina y aumentar su actividad; los minerales o corticoides como las aldosterona, pueden tener un efecto menor en la fosfatasa alcalina; los esteroides anabólicos pueden inhibir la actividad de la fosfatasa alcalina.

La influencia de los esteroides en la fosfatasa también puede variar dependiendo del contexto fisiológico y la presencia de otras hormonas y condiciones fisiológicas de cada paciente. (Ej. Gx)

Materiales y métodos.

Fundamento:

La estimulación por esteroides hace referencia a la capacidad del esteroide para estimular la producción de enzimas hepáticas, en este caso, la fosfatasa alcalina. Los esteroides como la prednisolona y el cortisol se unen a los receptores en el núcleo del hepatocito y activan la transcripción de genes que codifican la fosfatasa alcalina.

El procedimiento para realizar la prueba de fosfatasa alcalina inducida por esteroides en caninos es el siguiente:

Materiales necesarios:

- Suero sanguíneo del paciente canino
- Esteroide inductor (generalmente prednisolona)
- Reactivo de la fosfatasa alcalina: p-nitrofenil fosfato
- Buffer de la fosfatasa alcalina: Buffer de Tris
- Equipo de laboratorio: centrífuga, espectofotómetro.

Procedimiento:

1. Recolección de la muestra basal: se debe tomar una muestra sanguínea del paciente. Canino antes de la administración de esteroides. El suero sanguíneo debe ser temperado, posteriormente, separado mediante centrifugación y almacenado a temperatura ambiente.
2. Administración del esteroide: se administra la dosis de esteroide. la dosis de la estimulación en caninos puede variar dependiendo de laboratorio y el protocolo específico utilizado por cada patólogo clínico. Sin embargo, una dosis comúnmente utilizada es:

Prednisolona: 1-2mg por kilogramo de peso corporal, administrado por vía endovenosa dos horas antes de la primera recolección de muestra.

Otra opción es:

Dexametasona: 0.1.-0.2 mg por kilogramo de peso, administrada por viendo venosa dos horas.

Antes de la primera recolección demuestra

3. Recolección de muestras subsecuentes: a continuación se tomarán muestras de sangre adicionales a las 2, 4 y 6 horas después de la administración del esteroide. En todos los casos el suero sanguíneo se separa mediante centrifugación y debe almacenarse a temperatura ambiente.
4. Preparación de la mezcla de reactivo: de acuerdo a los protocolos de cada laboratorio de análisis clínico veterinario, se debe preparar una mezcla del reactivo de fosfatasa alcalina y el buffer de fosfatasa alcalina.
5. Medición de la actividad enzimática: a continuación, deben medirse los niveles de la fosfatasa en cada muestra de suero sanguíneo. Utilizando equipo de laboratorio como el especto fotómetro. La mezcla de reactivo. Se añade a cada muestra y se incuba durante un tiempo determinado. Generalmente 30 minutos. La absorbancia se mide a una longitud de onda específica que depende de cada equipo y calibración. Generalmente a 405 nm
6. Interpretación de resultados: todos los resultados obtenidos en esta prueba deben interpretarse en función de la respuesta hepática a la estimulación con esteroides. Un aumento significativo en la actividad enzimática de la fosfatasa, alcalina indica, en este caso, una respuesta normal del hígado a los esteroides.

¿Qué resultados se consideran normales?

El resultado normal de la prueba de fosfatasa alcalina estimulada por esteroides, varía dependiendo de laboratorio y las condiciones particulares del paciente canino. En forma general, se considera que un aumento en la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina más del 50% posterior a la administración de los esteroides es indicativo de una respuesta normal.

¿ Qué resultado se consideran anormales?

En contraste a lo anterior, un aumento menor del 50% en la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina posterior a la administración de los esteroides puede indicar una disfunción hepática o una enfermedad hepática. Un aumento significativo en la actividad enzimática por encima de los rangos normales (>100%). también puede indicar una obstrucción de la vía biliar.

Los rangos de referencia normales para la prueba de fosfatasa alcalina, inducida por esteroides en caninos, pueden variar dependiendo del laboratorio y los métodos empleados para medirla. Sin embargo, algunos de los rangos de referencia generales son los siguientes y se expresan en unidades de actividad enzimática por mililitro.

Actividad basal (previo a la estimulación con esteroides):

- perros adultos: 0.5.-3.5 U/ml
- Perros jóvenes (antes de los seis meses de edad) 1.5 – 6.0U/ml

Posterior a la administración de esteroides: se espera un aumento de al menos 50-100% respecto al valor basal.

Muestreo seriado:

- 2 horas después de la administración de esteroides: esta es la primera muestra y se toma para evaluar la respuesta inicial del hígado a los esteroides
- 4 horas después de la administración de esteroides: en esta muestra se evalúa la respuesta máxima del hígado a la estimulación.
- 6 horas después de la administración de esteroides: esta muestra se toma para evaluar la respuesta tardía del hígado frente a los esteroides.

Resultados

A continuación se presentan algunos ejemplos, creados con el propósito de ilustrar esta revisión bibliográfica, de los resultados que se pueden obtener de esta determinación y su interpretación:

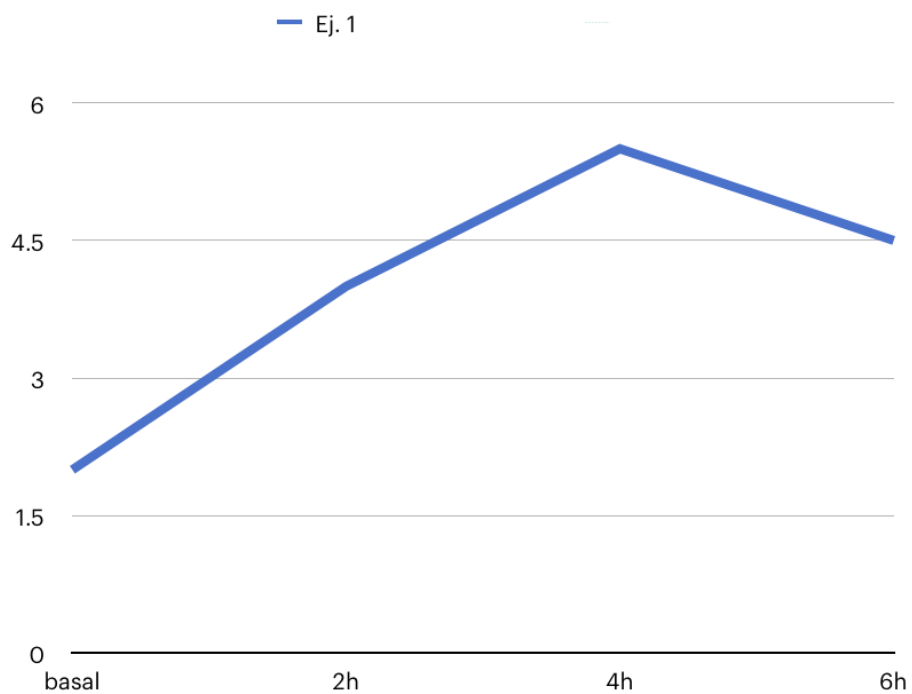
Ejemplo 1.

Valor basal: 2.0 U/ml

Valor a las 2h: 4.0 U/ml

Valor a las 4h: 5.5U/ml

Valor a las 6h: 3.5U/ml



- El valor basal es normal
- Posterior a la administración de esteroides. Los valores aumentan significativamente lo que indica una respuesta normal a los esteroides.
- La curva de respuesta es típica, con un pico a las cuatro horas y un descenso gradual posterior.
- La respuesta enzimática en este caso es normal, lo que sugiere que la función hepática es adecuada.

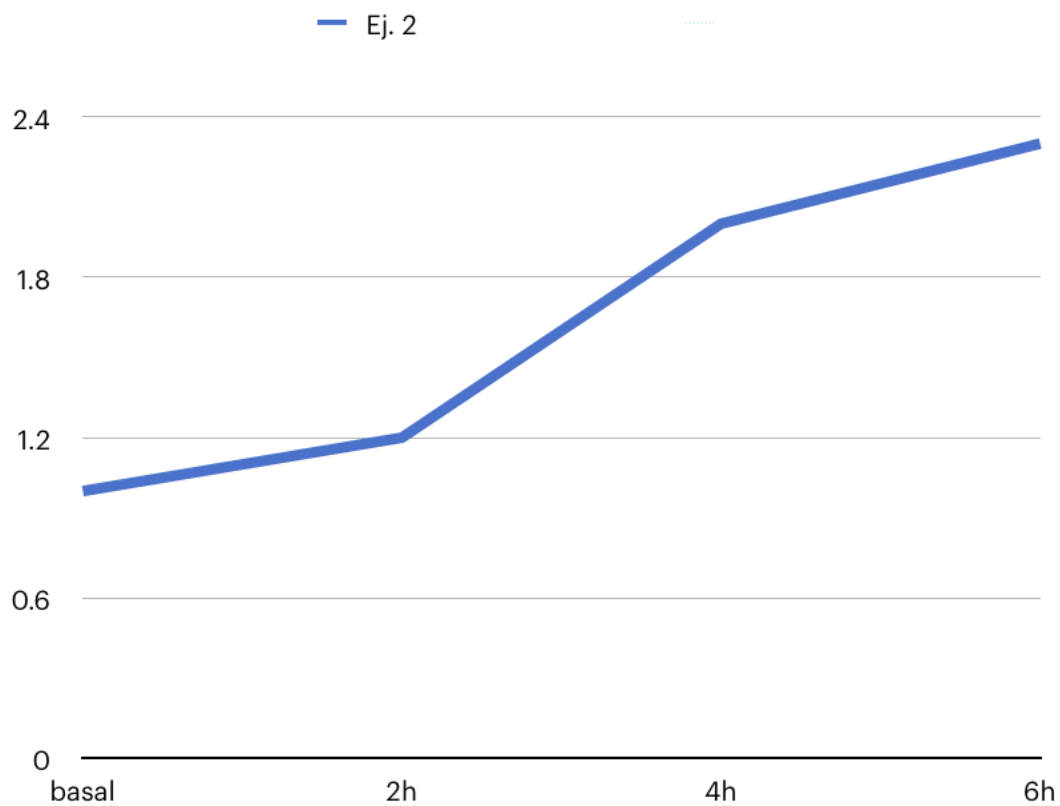
Ejemplo 2.

valor basal: 1.0 U/ml

Valor a las 2h: 1.2 U/ml

Valor a las 4h: 2.0 U/ml

Valor a las 6h: 2.3 U/ml



- la respuesta enzimática es anormal, hay un aumento mínimo en los valores. Después de la administración de esteroides. Esto sugiere una disfunción hepática leve o moderada.

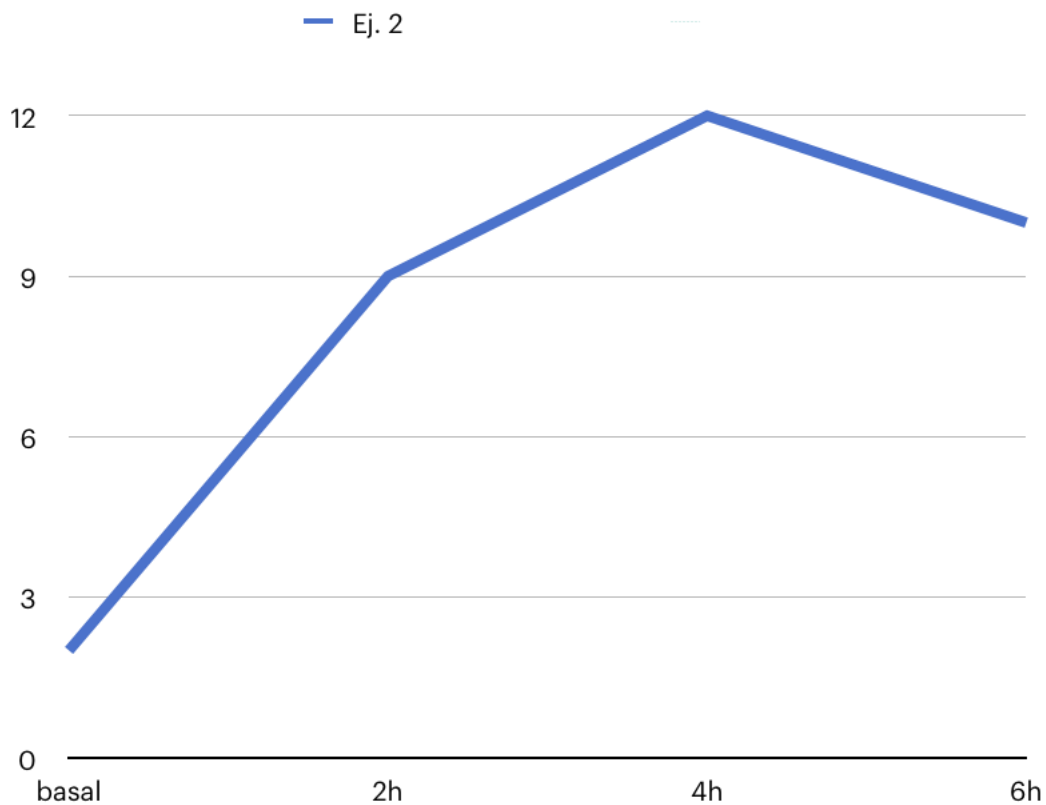
Ejemplo 3.

Valor basal: 2.0

Valor a las 2h: 9.0 U/ml

Valor a las 4h: 12.0U/ml

Valor a las 6h: 10 U/ml



- el aumento en los valores de fosfatasa alcalina es significativo, lo que sugiere una respuesta hepática exacerbada a los esteroides
- El aumento puede indicar un daño hepático por colestasis o daño hepático.
- También deben considerarse otras causas como enfermedades pancreáticas y óseas.

Discusión.

La prueba de fosfatasa alcalina inducida por esteroides está indicada en las siguientes situaciones:

- En caso de sospecha de enfermedad hepática. Especialmente si hay antecedentes de exposición a esteroides o medicamentos o sustancias hepatotóxicas.
- Para monitorear pacientes con enfermedades hepáticas crónicas, evaluar su progresión y ajustar el tratamiento.

- Para evaluar lesiones hepáticas inducidas por esteroides en los casos de pacientes que han recibido tratamiento médico relacionado con los mismos, pacientes que presentan signos de lesión hepática y pacientes con enfermedades como el síndrome de Cushing cuya alteración en el cortisol sanguíneo puede alterar la función hepática y en este caso la fosfatasa alcalina.
- Para detectar enfermedades hepáticas subclínicas y el monitoreo de pacientes con factores de riesgo como obesidad, diabetes o hipertensión arterial. (Smith, J., et al. 2009)

Es una prueba bioquímica que nos ayuda a determinar la actividad de la enzima fosfatasa alcalina en el suero sanguíneo canino después de la administración esteroides, lo cual es un indicador de la función hepática y la presencia de lesiones hepáticas.

Esta prueba es una herramienta valiosa para evaluar la función del hígado y detectar lesiones, especialmente aquellas inducidas por esteroides tanto endógenos (cortisol), como exógenos. Tiene una alta sensibilidad y especificidades para detectar lesiones leves a moderadas por lo que se vuelve un recurso útil en la detección temprana de hepatopatías en pacientes caninos.

Sensibilidad: 80-90% para detectar **lesiones** hepáticas leves a moderadas.

Más alta, en comparación con la medición de transaminasas (ALT Y AST) que cuentan con un 70-80% para detectar lesiones hepáticas agudas y en el caso de la GGT 60-70% para detectar lesiones hepáticas crónicas.

Especificidad: 90-95% para excluir lesiones hepáticas severas.

Frente a otras pruebas como la determinación de transaminasas (ALT Y AST) 80-90% para excluir lesiones hepáticas agudas y la determinación de GGT 70-80% para excluir lesiones hepáticas crónicas. (Lee, S., et al. 2009)

En general, como se puede observar, es más sensible y específica que las transaminasas y la GGT para la detección de lesiones hepáticas cuando estas son leves a moderadas, es decir para ofrecer un diagnóstico oportuno y temprano, sin embargo, la elección de la prueba depende del contexto clínico y las condiciones particulares de cada paciente, así como las necesidades y criterios de médico tratante y los objetivos del diagnóstico y la terapéutica clínica.

También es importante destacar que la determinación de transaminasas es muy útil para determinar daño hepático agudo, así como la determinación de GGT resulta muy útil en el caso del diagnóstico de daño hepático crónico.

Es por ello que debemos considerar que la prueba de fosfatasa alcalina inducida por esteroides no es una prueba exclusiva para detectar lesiones y daño hepático, y debe ser utilizada en conjunto con otras pruebas y evaluaciones para obtener un diagnóstico preciso. (Johnson, K., et al. 2009)

Se debe considerar, además, que no es una prueba infalible y si cuenta con algunas limitaciones. Por ejemplo, la actividad de la FAS en el suero sanguíneo puede ser influenciada por factores como la edad del paciente, el sexo, el estado fisiológico y la presencia de otras enfermedades. Además, esta prueba no puede distinguir entre el daño hepático producido por esteroides y otras causas de lesiones hepáticas. (Kim, J. 2009)

Conclusiones.

1. Esta prueba es una herramienta muy útil para evaluar la función hepática y detectar lesiones hepáticas inducidas por esteroides tanto endógenos como exógenos.
2. Es especialmente útil en la detección de lesiones hepáticas de leves a moderadas.
3. No es una prueba exclusiva para detectar lesiones hepáticas y debe analizarse en conjunto con otras pruebas y determinaciones.
4. Tiene limitaciones como la probabilidad de resultados falsos negativos o falsos positivos y variaciones relacionadas a las condiciones particulares y fisiológicas de cada paciente.
5. Puede ser muy útil en la detección de hepatotoxicidad en pacientes que reciben tratamientos con fármacos hepatotóxicos, han consumido alguna toxina, barbitúricos o tienen otras enfermedades que alteran el metabolismo del cortisol.
6. Debe ser interpretada en el contexto clínico específico de cada paciente y en conjunto con otros resultados, pruebas y evaluaciones clínicas.

Referencias.

1. Enzimas hepáticas de utilidad diagnóstica en la clínica de los animales domésticos. Mírela Noro, Fernando Witter. Instituto de ciencias. Clínicas veterinarias. UACH Revista VETERMAS año 3 no. 6. Diciembre 2004
2. Review Alkaline phosphatase laboratory and clinical implicatios. Meyer-saballek, Wolfgang. Departamento de medicina interna, división de nefrología, Berlín, 1988.
3. Aproach to a patient with elevated serum alkaline phosphatase. Siddique, Asma.
4. Steroid-induced alkaline phosphatase in dogs. Review.” Kass, P.H et al. Veterinary Clinical pathology. 2011. Doi: 10.1111/j.1939-165x.2011.00323.x
5. “Canine hepatic disease” Pruebas diagnósticas para enfermedades hepáticas en caninos: Fosfatasa Alcalina inducida por esteroides. AVMA 2018.
6. Evaluación de la función hepática en pacientes con enfermedad hepáticas crónica utilizando fosfatasa alcalina inducida con esteroides. Smith, J., et al. Journal of clinical gastroenterology, vol. 43, no. 6, 2009, pp. 536-542.
7. Fosfatasa alcalina inducida por esteroides como marcador de hepatotoxicidad en pacientes con artritis reumatoide. Johnson, K,. Et al Journal of Reumatology. Vol.36, no. 5, 2009.
8. Pruebas de función hepática en pacientes con hepatitis crónica. Estudio comparativo de fosfatasa alcalina inducida por esteroides y otros marcadores) Lee, S., et al. Journal of Medical Virology, vol. 81, no. 5, 2009.
9. Utilidad de la fosfatasa alcalina inducida por esteroides en el diagnóstico de la enfermedad hepática. Kim, J., et al. Journal of Clinical Laboratory Analysis, vol. 23, no. 4, 2009, pp. 241-246.

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios
Superiores Cuautitlán



Medicina Veterinaria y Zootecnia

Diplomado Medicina de Laboratorio Basado en
Evidencias

Fuctosamina y Hemoglobina Glucosilada en el
diagnostico de enfermedades en felinos



Castellanos Iglesias Mayra Desireé

Índice

Introducción	03
Antecedentes	04
Hipótesis y objetivos	05
Material y/o Métodos	05
Resultados	05
Discusión	09
Conclusión	10
Bibliografía	11

Introducción

Las proteínas Se enlazan con la glucosa irreversiblemente y la medición de las proteínas glicosiladas pueden proporcionar una indicación de las concentraciones de glucosa en la sangre después de un periodo de tiempo. La vida media de las proteínas determinar periodo durante el cual las proteínas glicosiladas reflejan la concentración de glucosa en sangre. Los valores también están afectados por la duración del aumento de glucosa en la sangre: si el aumento de glucosa en sangre es transitorio, no se detectarán aumentos significativos en las concentraciones de proteínas glicosiladas (Marca.,2000). Aparte de las concentraciones de glucosa, Cualquier enfermedad que afecte de forma significativa la vida media de la proteína que se evalúa puede influir en el resultado. Las proteínas glicosiladas que se utilizan más son la fructosamina y la hemoglobina glicosilada.

La fructosamina es albumina glicosilada de forma irreversible y es útil para la evaluación de la media de la concentración de glucosa en sangre tanto en perros como en gatos. La albumina tiene un tiempo de vida media más corto que el de la hemoglobina y la fructosamina refleja el control glicémico de 2 a 3 semanas previas a la toma de muestra la hiperglicemia transitoria por estrés no afecta las concentraciones de fructosamina y por tanto es útil para distinguir entre diabetes mellitus e hiperglicemia asociada a estrés excitación. La concentración de fructosamina puede ser baja en pacientes con Hipoglucemia recurrente y la evaluación de la fructosamina puede ser útil en el diagnóstico de insulina especialmente cuando no puede documentarse hipoglucemia. la fructosamina solo puede medirse en muestras de suero.

La hemoglobina glicosilada y sobre todo la fracción A1c de la hemoglobina glicosilada (HbA1c), Es un producto de la glicosilación de la hemoglobina. La hemoglobina glicosilada refleja el control glicémico de las cuatro a 8 semanas previas a la toma de muestra y depende de la vida media de los eritrocitos. Los gatos tienen concentraciones de referencia menores, lo que puede ser debido a que sus eritrocitos tienen una vida media más corta o la presencia de menos lugares de enlace para la glucosa en la hemoglobina de modo que, en esta especie, normalmente se prefiere la fructosamina, tanto para el diagnóstico como para la monitorización.

Factores que afectan a las concentraciones de fructosamina en el suero

- 🐾 Concentración de Albúmina/ proteína: las reducciones en las concentraciones de proteínas en el suero pueden reducir la concentración de fructosamina; sin embargo, la fructosamina permanecerá elevada en pacientes con hipoproteinemia concurrente y diabetes mellitus mal controlada, a no ser que presenten hipoproteinemia grave (Jensen , 1993)
- 🐾 Hipertiroidismo e hipotiroidismo: el aumento del recambio de proteínas asociado al hipertiroidismo da lugar a una reducción en las concentraciones de fructosamina abro paréntesis debido a la disminución de la vida media cierre paréntesis. en gatos coma esto puede ser un factor importante de confusión en el diagnóstico de diabetes mellitus con hipertiroidismo por el contrario los perros con hipotiroidismo

(y algunos gatos después de una tiroidectomía) pueden tener concentraciones de fructosamina elevadas debido a la desaceleración. (Reushc.,2002)

La hemoglobina glicosilada Debe interpretarse teniendo en cuenta la concentración de hemoglobina:

- 🐾 Anemia. por definición, la anemia es una reducción en la concentración de hemoglobina. de modo que coma en pacientes con anemia coma se encontrará menos hemoglobina y menos lugares de enlace para la glucosa punto la concentración de hemoglobina glicosilada será menor.
- 🐾 Eritrocitosis /policitemia. Un aumento en la concentración de hemoglobina (lo cual tiene lugar en la policitemia) puede originar un aumento en la disponibilidad de los lugares de enlace para la glucosa y una falsa elevación en la hemoglobina glicosilada

Antecedentes

En el pasado, el control metabólico en personas y animales diabéticos se evaluaba a partir de mediciones de glucosa en sangre y orina. Sin embargo, debido a que ambos parámetros indican el estado glucémico sólo en un momento dado, son marcadores irreales para el control metabólico a largo plazo. Por lo tanto, fue un gran avance cuando durante la década de 1970 estuvieron disponibles técnicas para medir la hemoglobina glicosilada que proporcionaban una indicación retrospectiva objetiva de las concentraciones de glucosa en sangre durante las preciosas 4 a 8 semanas. en las personas, la medición de la hemoglobina glicosilada se ha adoptado como una herramienta útil para el control de la diabetes. Durante la última década, los estudios en animales demostraron que también en gatos diabéticos la medición de la hemoglobina glicosilada es un parámetro útil en el diagnóstico y control metabólico.

Poco después del desarrollo de las técnicas de medición de HBA1, se descubrió que las proteínas séricas se glucosilaban de forma análoga. Debido a su vida más corta en comparación con la hemoglobina, se propuso que pudieran usarse para reflejar el control glucémico durante las preciosas 2 a 3 semanas, lo que los hace de gran interés para monitorear los resultados de programas vigorosos de tratamiento de la diabetes. en 1982 Johnson et al. describieron un nuevo ensayo para medir estas proteínas glucosiladas denominadas fructosaminas. El ensayo de fructosamina se basa en la capacidad de los residuos de glucosa unidos a cetoamina en las proteínas séricas glucosiladas para reducir el colorante nitroazul tetrazolio. El término "fructosamina" se refiere a la estructura del producto de transposición de cetoamina (1-desoxi-I [-lisil-albúmina]fructosa) formado como resultado de la reacción no enzimática entre la glucosa y el grupo amino en los residuos de lisina de la proteína. Dado que la reacción es irreversible, las concentraciones

de fructosamina dependen de la duración y extensión de la hiperglucemia y de la vida media de las proteínas séricas.

Hipótesis y Objetivos

El uso de las pruebas de Fructosamina y Hemoglobina Glicosilada como herramientas diagnósticas de enfermedades en felinos

- 1) diferenciar de manera confiable entre gatos diabéticos y no diabéticos
- 2) emitir un juicio sobre la situación metabólica en casos de diabetes clínicamente manifiesta
- 3) diferenciar entre gatos diabéticos y gatos con hiperglucemia transitoria por alguna otra enfermedad.
- 4) correlacionar las concentraciones séricas de fructosamina con medidas establecidas de control glucémico y comparar las concentraciones séricas de fructosamina y hemoglobina glicosilada en sangre como medio para evaluar el control glucémico en gatos diabéticos.

Materiales y Métodos

En diversos estudios la media de los gatos que se utilizaron un promedio aproximado de 1 a 40 gatos que van en grupos de gatos sanos, gatos con DM de los cuales también se dividía entre los gatos controlados, los no controlados o pobremente controlados, pacientes con hiperglucemia por estrés, pacientes anémicos, pacientes hiper tiroideos y en menor medida hipotiroideos y un solo gato con hiperadrenocortisismo iatrogénico.

Se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales después de un ayuno nocturno. El control de glicemia fue clasificado y monitoreado por concentraciones de fructosamina en suero y HbA1c en sangre de cada grupo.

Resultados

Valores de concentración de la media de glucosa en sangre(MBG)/12 h y glucosa en sangre en ayunas(FBG), se determinaron las concentraciones de fructosamina y GHB en sangre para cada grupo de gatos (tabla 1).

Las concentraciones medias de FBG fueron significativamente ($P<0,001$) mayores en 5 gatos con hiperglucemia inducida por estrés, en comparación con gatos sanos; sin embargo, las concentraciones medias de fructosamina sérica o HbA1 en sangre no difirieron significativamente entre estos 2 grupos de gatos.

Los gatos diabéticos no tratados y los gatos diabéticos mal controlados y bien controlados tratados con insulina o glipizida tuvieron concentraciones medias de FBG, fructosamina sérica y HbA1 en sangre significativamente más altas, en comparación con los gatos sanos. Los valores medios de la concentración de MBG/12 h y de FBG, fructosamina sérica y HbA1 en sangre fueron significativamente mayores en gatos diabéticos mal controlados, en comparación con gatos diabéticos bien controlados.

Los rangos de referencia (media $\pm$ 2 SD) para las concentraciones séricas de fructosamina y HbA1 en sangre en gatos sanos fueron de 182 a 362 $\mu\text{mol/L}$ y de 0,9 a 2,2% respectivamente.

Las concentraciones medias de fructosamina sérica y HbA1 en sangre difirieron significativamente entre los grupos, pero gatos específicos con DM tuvieron valores que estaban dentro de los rangos de referencia para gatos sanos (tabla 2).

Los cambios en las concentraciones séricas de fructosamina y GHB en sangre se correlacionaron con cambios en el control glucémico. Concentraciones medias de FBG (antes de modificar el tratamiento 365 ± 138 mg/dl; después del tratamiento 113 ± 58 mg/dl) y concentración de MBG/12h (antes de modificar el tratamiento, 366 ± 98 mg/dl; después de modificar el tratamiento 126 ± 42 mg/dl) fueron significativamente menores en 12 gatos diabéticos mal controlados de 1 a 10 semanas (media, $6,5 \pm 2,5$ semanas; mediana 7 semanas) después de mejorar el control diabético al aumentar la dosis de insulina de $1,3 \pm 0,5$ a $1,4 \pm 0,6$ U/ kg de peso corporal 24/h y alimentación con dieta rica en fibra. Hubo una disminución significativa correspondiente en las concentraciones medias de fructosamina sérica y HbA1 en sangre (antes de modificar el tratamiento, 619 ± 142 $\mu\text{mol/L}$ y $2,7 \pm 1,3\%$, respectivamente; después de modificar el tratamiento 406 ± 157 $\mu\text{mol/L}$ y $2,3 \pm 0,7\%$ respectivamente) en estos 12 gatos.

Las concentraciones séricas de fructosamina disminuyeron en los 12 gatos después de modificar el tratamiento (rango, 48 a 527 $\mu\text{mol/L}$; media, 214 ± 149 $\mu\text{mol/L}$; mediana 188 $\mu\text{mol/L}$). Después de modificar el tratamiento, la concentración de GHB en sangre disminuyó en 7 de 12 gatos (rango, 0,3 a 4,9 %; media $1,3 \pm 0,6\%$; mediana 0,7 %), permaneció sin cambios en 1 gato y aumentó en 4 gatos (rango, 0,3 a 2,3 % ; media $1,0 \pm 0,4\%$, mediana 0,75%). Siete de 12 gatos tuvieron disminuciones en las concentraciones séricas de fructosamina y HbA1 en sangre después del tratamiento con modificaciones; los 5 gatos restantes mostraron cambios discordantes en las concentraciones séricas de fructosamina y HbA1 en sangre. Después de modificar el tratamiento en estos 5 gatos diabéticos, 4 tuvieron un aumento en la concentración de HbA1 en sangre y una disminución en la concentración de fructosamina sérica, lo que se correspondió con cambios en los signos clínicos y hallazgos del examen físico y aumentos en el peso corporal, la concentración de FBG y las concentraciones de MBG/12 h.

Estos 4 gatos diabéticos fueron reevaluados entre 27 y 54 días (mediana, 43 días) después de modificar el tratamiento. Un gato diabético sin cambios en la concentración sanguínea de HbA1 y sin mejora en otras variables utilizadas para evaluar el control de la glucemia, fue reevaluado 38 días después de modificar el tratamiento.

La concentración media de FBG (125 ± 45 mg/dl) y la concentración de MBG/12 h (114 ± 37 mg/dl) aumentaron significativamente (concentración de FBG, 436 ± 56 mg/dl; concentración de MBG/12 h, 383 ± 100 mg/dl) en 8 gatos diabéticos bien controlados que fueron reevaluados en el hospital de 2 a 10 semanas (mediana, 7 semanas), más tarde debido a la recurrencia de los signos clínicos de diabetes. Hubo un aumento significativo en las concentraciones medias de fructosamina sérica y HbA1 en sangre (antes de la recurrencia de los signos clínicos, 369 ± 101 mmol/L y $2,1 \pm 0,5\%$ respectivamente; después de la recurrencia de los signos clínicos, 560 ± 158 mmol/L y $2,3 \pm 0,8\%$, respectivamente) en estos 8 gatos.

La concentración sérica de fructosamina aumentó en 7 de 8 gatos (rango, 74 a 461 μ mol/L; media 225 ± 170 μ mol/L; mediana, 118 mmol/L) después de la recurrencia de los signos clínicos y disminuyó 72 mmol/L en el otro gato reevaluado 15 días después de la recurrencia de los signos clínicos.

La concentración de HbA1 en sangre aumentó en 4 a 8 gatos (rango, 0,7 a 1,7%; $1,2 \pm 1,2\%$; mediana, 1,2%) y disminuyó en los otros 4 gatos (rango, 0,4 a 0,8%; media, $0,7 \pm 0,2\%$; mediana 0,7%) después de la recurrencia de los signos clínicos. Los 4 gatos diabéticos con concentraciones sanguíneas reducidas de HbA1 fueron reevaluados entre 44 y 77 días (mediana, 50 días) después de la recurrencia de los signos clínicos. Tres de 8 gatos diabéticos tuvieron un aumento en la fructosamina sérica y la HbA1 en sangre a pesar de la recurrencia de los signos clínicos; los 5 gatos diabéticos restantes tienen cambios discordantes en las concentraciones séricas de fructosamina y HbA1 en sangre.

La concentración de MBG/12 h aumentó significativamente (278 ± 41 frente a 417 ± 26 mg/dl) en 5 gatos dóciles $6,2 \pm 0,7$ semanas después de que los gatos se volvieran irritables debido a las frecuentes hospitalizaciones y punciones venosas para determinaciones de glucosa en sangre.

El análisis de las concentraciones de glucosa en sangre sugirió un deterioro del control glucémico, pero los propietarios afirmaron que los signos clínicos no habían empeorado y que no había cambios en los hallazgos del examen físico ni en el peso corporal, lo que sugiere que las concentraciones más altas de glucosa en sangre medidas cuando los gatos estaban rebeldes estaban estresadas. inducido. Las concentraciones medias de fructosamina sérica (681 ± 88 frente a 645 ± 114 μ mol/L) y HbA1 en sangre ($32 \pm 0,8$ frente a $2,8 \pm 0,4\%$) no difirieron significativamente cuando los gatos eran dóciles, en comparación con cuando se volvían reactivos.

En el caso del Gato con Hiperadrenocortisismo iatrogénico los valores de Fructosamina no tuvieron cambios significativos y desde la primera muestra esta estuvo en rangos (tabla3). Lo mismo con los gatos Hiper Hipo y Eutiroides, los cuales mostraron significantes cambios entre ellos, pero solo después del tratamiento con Iodo radioactivo.(tabla 4)

Table 1—Blood glucose, serum fructosamine, and blood glycosylated hemoglobin concentrations in nondiabetic and diabetic cats

Group	Fasting blood glucose (mg/dl)*	Mean blood glucose/12 h (mg/dl)	Fructosamine (μmol/L)			Glycosylated hemoglobin (%)		
			Range	Median	Mean*	Range	Median	Mean
Nondiabetic cats								
Euglycemic	78 ± 31	ND	188–362	261	270 ± 45	0.8–2.1	1.6	1.6 ± 0.3
Stress-induced hyperglycemia	224 ± 65 ^a	ND	161–302	276	260 ± 57	0.5–2.6	1.8	1.7 ± 0.4
Diabetic cats								
Untreated	367 ± 82 ^{a,b}	319 ± 72 ^b	298–788	631	594 ± 134 ^{a,b}	1.3–4.1	3.0	3.0 ± 0.7 ^{a,b}
Poorly controlled	382 ± 115 ^{a,b}	363 ± 76 ^b	264–1,133	630	628 ± 148 ^{a,b}	0.8–6.2	2.7	2.8 ± 0.8 ^{a,b}
Well-controlled	128 ± 71 ^a	113 ± 34	183–840	356	397 ± 140 ^a	0.8–4.2	2.1	2.0 ± 0.7 ^a

*Values represent mean ± SD. Nondiabetic cats include healthy euglycemic cats (n = 26) and healthy cats with stress-induced hyperglycemia (5). Diabetic cats include cats that were untreated (n = 15) or that were treated but had poorly controlled (24; 18 insulin, 6 glipizide) or well-controlled (12; 9 insulin, 3 glipizide) diabetes mellitus.
^aWithin the same column, value differs significantly ($P < 0.001$) from the value for euglycemic nondiabetic cats. ^bWithin the same column, value differs significantly ($P < 0.001$) from the value for well-controlled diabetic cats.
ND = not determined.

Table 2—Number of diabetic cats with serum fructosamine or blood glycosylated hemoglobin (GHb) concentrations within the reference range* established for healthy cats

Group (n)	Fructosamine	GHb
Untreated (15)	1	1
Poorly controlled (24)	1	7
Well-controlled (12)	6	5

*Reference range (mean ± 2 SD) for fructosamine was 182 to 362 μmol/L and for GHb was 0.9 to 2.2%.

Table 3 Results of laboratory tests

	SI units	(a) Day 0	(b) Day 3	(c) Day 7	(d, Follow-up	Reference range
Fructosamine	μmol/l	229	–	–	159	228–341

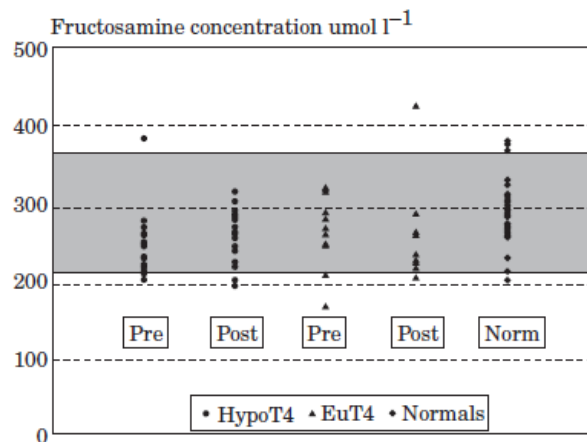


FIG 4: Serum fructosamine concentrations in 35 healthy cats and in two groups of hyperthyroid cats before and one month after radioactive iodine therapy separated according to post-treatment serum thyroxine concentration as hypothyroid (HypoT4) or euthyroid (EuT4). The shaded area represents the reference range of 216 to 387 μmol l⁻¹.

Discusión

Los estudios revelaron concentraciones séricas de fructosamina significativamente más altas en gatos diabéticos que en gatos sanos y en gatos con diabetes mellitus mal controlada frente a bien controlada. Además, las concentraciones séricas de fructosamina disminuyeron a medida que mejoró el control de la glucemia y aumentaron a medida que el control de la glucemia se deterioró. La hiperglucemia transitoria inducida por estrés no afectó los valores séricos de fructosamina en gatos diabéticos sanos o tratados con insulina. Los hallazgos del estudio aquí presentado son similares a los reportados en humanos, perros y gatos y respaldan la medición de las concentraciones séricas de fructosamina para monitorear el control glucémico en gatos diabéticos.

El aumento de las concentraciones séricas de fructosamina en gatos diabéticos versus gatos sanos es consistente con el mecanismo por el cual se forman las fructosaminas.

La tasa de glicosilación depende de la concentración de glucosa a la que están expuestas las proteínas séricas y de la vida media de las proteínas. Los gatos diabéticos tienen hiperglucemia crónica que mejora la glicosilación de las proteínas séricas y produce aumentos en las concentraciones en comparación con los gatos euglucémicos sanos.

Los valores medios de fructosamina sérica diferían entre gatos diabéticos sanos y no tratados y gatos diabéticos bien controlados y mal controlados, pero el rango de valores de fructosamina sérica se superponía entre los grupos de gatos. Una concentración sérica de fructosamina dentro del rango de referencia para gatos sanos no descartó diabetes mellitus; 1 de 15 gatos diabéticos no tratados en varios estudios tenía una concentración sérica de fructosamina dentro del rango de referencia de un gato sano.

Las diferencias en las concentraciones de HbA1c en sangre entre grupos de gatos y los cambios en la concentración de HbA1c en sangre asociados con cambios en el control de la glucemia de gatos diabéticos tratados con insulina son similares a los resultados de las mediciones de fructosamina sérica y similares a otros informes en gatos diabéticos. El análisis de los resultados de numerosos informes respalda la medición de las concentraciones sanguíneas de HbA1c para controlar el control glucémico en gatos diabéticos. Sin embargo, cuando se compararon los resultados de las concentraciones de HbA1c en sangre y de fructosamina en suero entre gatos diabéticos específicos, la concentración de fructosamina en suero reflejó el estado del control glucémico mejor que la concentración de HbA1c en sangre, y los cambios en la concentración de fructosamina en suero reflejaron con mayor precisión los cambios en el control glucémico que la concentración de HbA1c en sangre. Estos hallazgos pueden atribuirse en parte a las diferencias en el tiempo entre los glóbulos rojos y las proteínas séricas, así como al sesgo inherente de las variables utilizadas para clasificar el control de la glucemia en gatos diabéticos. La vida media de los eritrocitos en los gatos es de aproximadamente 68 días; por lo tanto, un cambio en la concentración media de glucosa en sangre no debería reflejarse en un cambio en la concentración de HbA1c en sangre en <68 días.

En el caso del gato con Hiperadrenocorticismio iatrogénico uno de sus signos era la poliuria y la polidipsia que son secundarias a la diuresis osmótica inducida por la hiperglucemia y la glucosuria asociada, en lugar de estar directamente asociadas con los efectos de los esteroides como en los perros, podría ser posible que el efecto diabetogénico del exceso de glucocorticoides no estuviera presente durante el tiempo

suficiente en este gato durante estos signos clínicos se desarrollen. De hecho, el nivel de fructosamina sugirió que la hiperglucemia había estado presente durante no más de 3 a 4 días durante un período de 2 a 3 semanas, según la vida media de la fructosamina (Crenshaw et al 1996).

Por esta razón, la hiperglucemia puede haber estado relacionada con la intolerancia a la glucosa mediada por el estrés o los glucocorticoides exógenos, más que con la diabetes mellitus, al aumentar la gluconeogénesis y disminuir la utilización de la glucosa en los tejidos periféricos (Middleton y Watson 1985, Behrend y Kemppainen 1997). Otra explicación para la hiperglucemia podría ser la hepatopatía concomitante, acompañada de una disminución de la glucogénesis y del aclaramiento de glucocorticoides.

El hallazgo de concentraciones más bajas de fructosamina sérica en gatos con hipertiroidismo que en el grupo control respalda que la presencia de hipertiroidismo puede tener implicaciones en la interpretación de las concentraciones de fructosamina en gatos diabéticos con ambas enfermedades y se ha informado previamente en un pequeño grupo de gatos hipertiroides (Reusch et al 1998). La magnitud de las posibles alteraciones en las concentraciones de fructosamina quedó enfatizada por el hallazgo de que hasta el 17 por ciento de los gatos hipertiroides tuvieron resultados por debajo del rango de referencia. Lloyd y Marples (1985) informaron una concentración reducida de fructosamina en humanos con hipertiroidismo y concentraciones aumentadas en pacientes hipotiroideos sin diferencias en las concentraciones de proteínas totales. Waterson y Mills (1988) coincidieron y registraron concentraciones reducidas de fructosamina en pacientes hipotiroideos tratados con terapia de reemplazo que eran bioquímicamente eutiroides y sugirieron un mecanismo no dilucidado por el cual la tiroxina podría alterar el recambio de proteínas en concentraciones que no afectaban el eje pituitario-tiroideo.

Conclusión

Los niveles de fructosamina y de la hemoglobina glicosilada se alteran por los cambios en la concentración de las proteínas séricas y de la hemoglobina, respectivamente. Es preciso tener este dato en cuenta a la hora de interpretar los resultados analíticos (Nelson, 2005). Cada vez se utiliza más la fructosamina en la práctica, porque puede cuantificarse con facilidad y rapidez.

A partir de la publicación del primer artículo sobre la fructosamina como indicador de la glucemia en gatos diabéticos (Kaneko y col., 1992), en numerosas publicaciones posteriores se ha confirmado su eficacia como marcador útil y simple de la hiperglucemia crónica (Reusch y col. 1993; Lutz y col., 1995; Crenshaw y col., 1996; Thoresen y Bredal, 1996; Plier y col., 1998; Elliott y col., 1999; Reusch y Haber, 2001). Los valores de referencia difieren ligeramente de unos laboratorios a otros, pero globalmente son de la misma magnitud (**Imagen 1**). Una ventaja importante con respecto a la medición de la glucemia es que la hiperglucemia por estrés de corta duración no afecta a la determinación de la fructosamina sérica, lo que permite diferenciarla de la hiperglucemia diabética. (**Figura 2**). Sin embargo es de suma importancia correlacionar signos clínicos y no usar sola si no que utilizarla con otras pruebas complementarias

INTERPRETACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE FRUCTOSAMINA Y HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN GATOS DIABÉTICOS

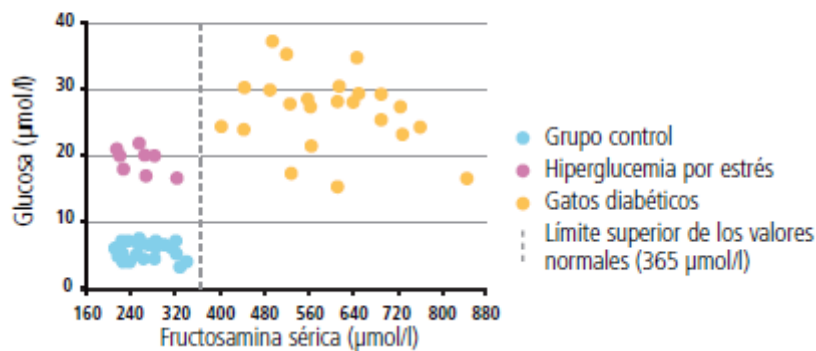
(según Nelson, 2005)

Seguimiento de los gatos diabéticos	Fructosamina ($\mu\text{mol/l}$)	Hemoglobina glicosilada (%)
valores normales	190-365 $\mu\text{mol/l}$ (media de 240)	0,9 – 2,5 % (media de 1,7)
control excelente de la glucemia	350 - 400	1,0 – 2,0
buen control	400 - 450	2,0 – 2,5
control medio	450 - 500	2,5 – 3,0
control insuficiente	> 500	> 3,0
hipoglucemia mantenida	< 300	< 1,0

Los valores normales difieren ligeramente de unos laboratorios a otros.

- CONCENTRACIONES SÉRICAS DE FRUCTOSAMINA EN GATOS NORMOGLUCÉMICOS Y CON HIPERGLUCEMIA DE ORIGEN DIABÉTICO O POR ESTRÉS

(Según el Profesor C. Reusch, Facultad Vetsuisse de la Universidad de Zurich)



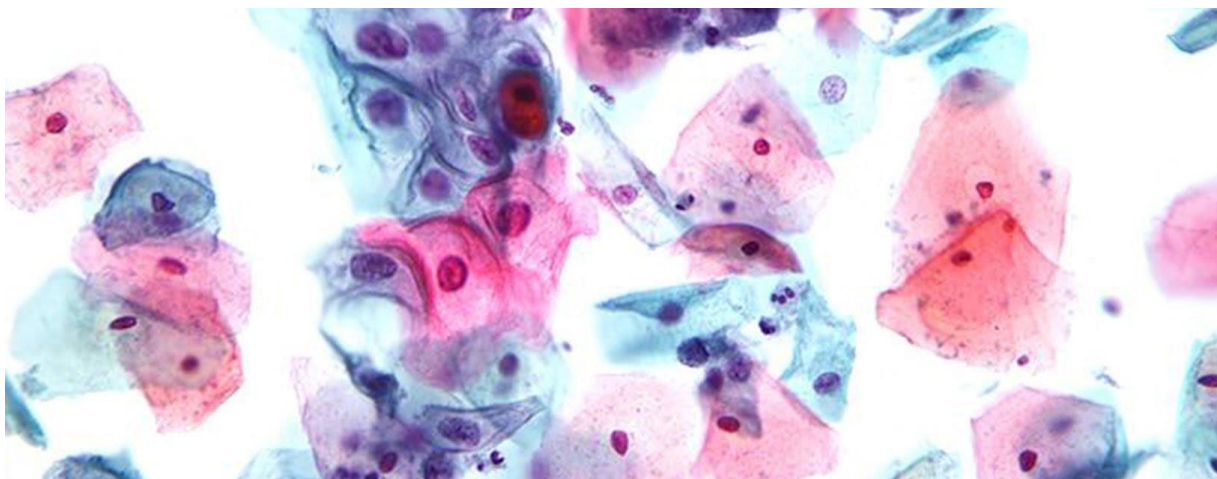
Bibliografía

- REUSCH C.E., LIEHS M.R., HOYER M. & VOCHEZER R. (1993) Fructosamine: a new parameter for diagnosis and metabolic control in diabetic dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7, 177–182.
- Reusch CE, Haberer B. Evaluation of fructosamine in dogs and cats with hypo- or hyperproteinaemia, azotaemia, hyperlipidaemia and hyperbilirubinaemia. *Vet Rec.* 2001;148(12):370-376.

- 🐾 LUTZ T.A., RAND J.S. & RYAN E. (1995) Fructosamine concentrations in hyperglycemic cats. *Canadian Veterinary Journal* **36**, 155–159.
- 🐾 LLOYD D. & MARPLES J. (1986) Serum fructosamine and thyroid function. *Clinical Chemistry* **32**, 1985.
- 🐾 KENNEDY L. (1992) Glycation of Haemoglobin and Serum Proteins. In: Alberti KGMM, DeFronzo RA, Keen H and Zimmet P (Eds.) *International Textbook of Diabetes Mellitus*. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 983–1007.
- 🐾 Yoshiya K, Kishimoto T, Ishikawa Y, Utsunomiya J (1987) Insulin response following intravenous glucose administration in dogs with obstructive jaundice. *Journal of Surgical Research* **43**, 271–277
- 🐾 Middleton DJ, Watson ADJ (1985) Glucose intolerance in cats given short-term therapies of prednisolone and megestrol acetate. *American Journal of Veterinary Research* **46**, 2623–2625
- 🐾 Nelson RW, Feldman EC, Smith MC (1988) Hyperadrenocorticism in cats: seven cases (1978–1987). *Journal of American Veterinary Medical Association* **193**, 245–250
- 🐾 Behrend EN, Kemppainen RJ (1997) Glucocorticoid therapy: pharmacology, indications and complications. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* **27**, 187–213
- 🐾 Crenshaw KL, Peterson ME, Hebb LA, Moroff SD, Nichols R (1996) Serum fructosamine concentration as an index of glycemia in cats with diabetes mellitus and stress hyperglycemia.
- 🐾 Kaneko JJ, Kawamoto M, Heusner AA, et al. *Evaluation of serum fructosamine concentration as an index of blood glucose control in cats with diabetes mellitus*. *Am J Vet Res* 1992; 53: 1797-1801.
- 🐾 Nelson RW. *Diabetes mellitus*. In: *Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2005; 1563-1591.
- 🐾 Lutz TA, Rand JS. *Pathogenesis of feline diabetes mellitus*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1995; 25: 527-552.
- 🐾 Akol KG, Waddle JR, Wilding P. Glycated Hemoglobin and Fructosamine in diabetic and non diabetic cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1992;28:227-230.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



USOS Y LIMITACIONES DE LA TINCIÓN DE PAPANICOLAOU EN LA CITOLOGÍA VAGINAL EN CANINOS.

Trabajo de investigación documental

Nallely Magadan Rojas

DIPLOMADO EN MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN EVIDENCIA APLICADA A LA PRÁCTICA VETERINARIA

Índice

Introducción

Antecedentes

Marco de referencia

Hipótesis

Objetivos

Material y Métodos

Resultados

Discusión

Conclusiones

Bibliografía

Introducción

En el presente trabajo se analizó la técnica de tinción de Papanicolaou, las ventajas y desventajas que ésta ofrece para el diagnóstico de patologías cervicouterinas y la valoración de ciclo estral en caninos. Existe una gran variedad por individuo en la duración de las diferentes etapas del ciclo estral, así como en la intensidad de los signos clínicos. Además, el diestro no presenta signos identificables, lo que imposibilita determinar con exactitud su inicio o finalización. Lo que representa una gran dificultad para identificar las etapas del ciclo estral. Por lo cual en la actualidad la citología vaginal es la prueba de elección para auxiliar el diagnóstico. Las tinciones citológicas son herramientas de diagnóstico básicas en el laboratorio clínico. El fundamento de la coloración radica en la propiedad que poseen todos los tejidos para incorporar y fijar sustancias. La coloración se basa en la afinidad particular de ciertos tejidos o formaciones celulares por una sustancia colorante determinada (Llanes, M., Pérez, L., Mesa, Z. 2021). La tinción citológica permite un estudio más detallado de las estructuras celulares.

La Tinción de Papanicolau es un método de tinción policromático con el que se busca obtener contraste entre el núcleo y el citoplasma de las células. (Carrasco, C. 2013) Consiste en el uso de 3 colorantes; un colorante nuclear, hematoxilina, que tiene afinidad por la cromatina y lo tiñe de un color azul y colorantes citoplasmáticos, Orange Glas, tinción monocromática que colorea la queratina de un naranja brillante y penetra rápidamente al citoplasma y Eosina-Light Green, tinción policromática que tiñe el citoplasma de las células escamosas maduras, nucleolos y cilios. Light Green tiñe las células que son metabólicamente activas, como las células parabasales, intermedias y columnares. Las células superficiales se tiñen rosadas con la Eosina y por ello se describen como eosinofílicas. Las células parabasales e intermedias se tiñen de verde azul, dependiendo del tiempo de la tinción EA y se llaman cianofílicas (CNEGSR, 2006)

La citología una herramienta diagnostica útil en medicina veterinaria que permite identificar los procesos fisiológicos de los patológicos a nivel microscópico permitiendo clasificar las patologías como inflamatorias, no inflamatorias y/o neoplásicas. Además, brinda información que ayuda a confirmar o descartar diagnósticos clínicos presuntivos, es altamente confiable, no invasivo y de bajo costo (García, A., Andrade, J. 2021).

Antecedentes

En 1920 el Doctor George Papanicolaou desarrolla una técnica para predecir la ovulación de sus animales de laboratorio, observando la diferente morfología de las células, dependiendo de la fase del ciclo ovárico de los mamíferos, sin tener que sacrificarlos. Se enfocó en el aislamiento de células cancerosas para el diagnóstico temprano de cáncer cervicouterino, ofreciendo una opción diagnóstica confiable, más sencilla, barata y replicable que otros métodos usados en la época. A pesar de sus descubrimientos existía mucho escepticismo hacia el valor diagnóstico de la citología vaginal, hasta que con ayuda del profesor de obstetricia y ginecología Herbert Traut en 1943 publicaron el estudio "Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smears" en el cual reportaron los resultados de exámenes de frotis vaginales realizados a 3014 mujeres los cuales fueron 98.4 % acertados para el carcinoma cervical, 90.7 % para el carcinoma de cuerpo uterino.

Para 1948 la American Cancer Society aprobó la técnica en Estados Unidos y con ello en otros países recalando su importancia en el diagnóstico de carcinoma antes de presentar un crecimiento invasivo y requerir un procedimiento invasivo y costoso.

En medicina veterinaria la importancia de la técnica de citología vaginal radica en la resolución de patologías reproductivas e infecciosas, neoplasias, hiperestrogenismo y control del ciclo estral para determinar la fecha óptima de la monta y detectar celos silenciosos. Éste último aspecto ha cobrado gran relevancia en la actualidad pues se ha extendido el negocio de la cría de perros para mantener el potencial genético de una raza con determinado fin zootécnico. El proceso de inseminación significa un esfuerzo económico y de trabajo para el propietario por lo que si se hace en un momento donde la hembra no está lista para recibir la monta o fecundar un óvulo se presentan pérdidas de tiempo y dinero, por lo que un estudio citológico reduce significativamente el rango de error. Es una herramienta básica en el laboratorio clínico debido a su rapidez y bajo costo. La exactitud del diagnóstico está ligado a la experiencia y conocimiento del clínico que lo realiza pues se debe tener una buena base en el conocimiento de la estructura de los diferentes tipos de células, la fase del ciclo estral en el que se presentan, anormalidades y el momento óptimo para tomar la muestra.

La prevalencia de cáncer en perros se ha incrementado en los últimos años. Esto puede ser debido a un incremento real en la incidencia de cáncer, a un aumento de la población canina en situación de riesgo para el desarrollo de cáncer, o a la concienciación y el interés

de los propietarios de los animales de compañía por buscar otras opciones de diagnóstico y de tratamiento (Torres Mitchell, et al. 2015). Las neoplasias presentan una alta prevalencia en los órganos reproductores (82%). El tumor venéreo transmisible (TVT) es una de las neoplasias más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales, y afecta sobre todo a perros vagabundos y desnutridos. Es común en las zonas marginales donde no existe ningún plan de control de la población canina (Nuñez Guadalupe, 2022).

Marco de referencia

En un estudio realizado por la Universidad Católica De Santa María en 2013 en Perú, se tomaron raspados vaginales a 49 hembras de 16 razas en diferentes fases del ciclo estral con el fin de comparar diferentes métodos de tinción usados para diferenciar los ciclos estrales y diagnosticar neoplasias uterinas y vaginales. En éste se llegó a la conclusión que la tinción con mayor claridad de células fue Papanicolaou seguido por Diff Quick por el buen detalle citoplasmático y de nucleolos lo que permitió identificar anormalidades y en el caso de TVT dar un diagnóstico positivo confiable.

Los parámetros considerados para la evaluación y comparación fueron Tiempo de coloración, Celularidad, Costos y Claridad.

Hipótesis

La coloración policromática de la tinción de Papanicolaou registra mejores resultados en comparación con otras técnicas de tinción debido a su buen detalle y claridad celular que permite la identificación y diferenciación de los diferentes tipos de células.

Objetivos

- Conocer las ventajas de la tinción de Papanicolaou sobre otras coloraciones
- Determinar los casos óptimos para el uso de la tinción de Papanicolaou

Material y métodos

Para el desarrollo de esta investigación se tomaron los datos obtenidos por la MVZ. Carolina Del Rosario Carrasco en su investigación comparativa con 49 muestras teñidas con 4 métodos diferentes para valorar cambios citológicos durante el estro en perras y su aplicación en el diagnóstico de neoplasias vaginales y uterinas.

I. Materiales de laboratorio

- ✓ Colorante nuclear: Hematoxilina
- ✓ Colorantes citoplasmáticos: Orange G y EA 50
- ✓ Spray fijador / Metanol
- ✓ Alcohol etílico 50%
- ✓ Agua destilada
- ✓ Agua corriente
- ✓ Alcohol etílico 70%
- ✓ Alcohol etílico 96%
- ✓ Alcohol etílico 100%
- ✓ Solución aclaradora: Xilol
- ✓ Laminillas
- ✓ Cubre objetos
- ✓ Guantes
- ✓ Aceite de inmersión

II. Materiales biológicos

- ✓ Muestra de raspado vaginal fijada en húmedo

III. Equipo de laboratorio

- ✓ Microscopio óptico
- ✓ Cámara fotográfica

IV. Toma de muestra

1. Se introduce en la vagina un hisopo de algodón estéril humedecido con solución salina estéril utilizando un espéculo. El ángulo de inserción es de aproximadamente 45 grados.
2. El hisopo se frota suavemente (2-3 giros) contra la mucosa vaginal.
3. El hisopo de algodón se gira suavemente sobre la laminilla de forma vertical 3 veces y en paralelo

V. Tinción

La tinción de Papanicolaou tiene cuatro pasos principales

- I. Fijación.

- II. Tinción del núcleo con Hematoxilina.
- III. Tinción de citoplasma con Orange G y EA.
- IV. Aclaramiento.

Los pasos de la tinción están entremezclados con soluciones que hidratan, deshidratan y enjuagan las células. Desde 1960 se han hecho diversas modificaciones a la técnica, los núcleos celulares pueden ser teñidos de forma progresiva o regresiva. En la tinción progresiva de hematoxilina, se tiñe hasta el punto terminal y luego se enjuaga con agua corriente hasta el viraje a azul, en esta los tiempos de coloración son menores. En el método regresivo se sobretiñe la hematoxilina, el exceso de colorante se elimina con ácido clorhídrico; también aquí se realiza el azulado con agua corriente. En la tinción regresiva las estructuras del núcleo se presentan más diferenciadas y se pueden ver mejor.

1. Fijar la muestra con spray.
2. Sumergir sucesivamente en alcohol 100%, alcohol 96%, alcohol 70% y agua, 1 minuto en cada líquido. (hidratación)
3. Teñir con Hematoxilina de Harris durante 5 minutos
4. Lavar con agua corriente 6 veces durante 1 segundo.
5. Lavar con agua destilada y pasar la muestra por alcoholes de grado sucesivo, 70%, 96% y 100% durante 30 segundos en cada uno de ellos. (Deshidratación)
6. Teñir con Solución de Papanicolaou OG 6 de 1 a 1,5 minutos.
7. Lavar el exceso de colorante en dos baños de Etanol 96% sumergiendo la preparación 2 veces en cada uno de 3 a 4 segundos.
8. Teñir con Solución de Papanicolaou EA 50 de 1,5 a 2 minutos.
9. Lavar en 3 recipientes distintos de Etanol 96% v/v sumergiendo la preparación 2 veces de 3 a 4 segundos en cada uno de ellos.
10. Lavar en Etanol absoluto durante 30 segundos.
11. Sumergir la preparación durante 4 minutos en un baño 1:1 de Xilol y Etanol absoluto.
12. Aclarar con Xilol durante 3 minutos en un baño.
13. Observar al microscopio.

Caldera, 2024, menciona en su estudio que la sensibilidad y especificidad de la técnica de Papanicolaou mediante el método de citología líquida es de 92.3% y 98.7% respectivamente con un valor predictivo positivo de 80% y un valor predictivo negativo de 99.5% lo cual lo posiciona como una muestra muy confiable para diagnóstico de patologías neoplásicas cervicouterinas. El control de falsos negativos depende en gran medida del

patólogo que maneje la muestra pues sólo con una fijación inmediata se pueden prevenir cambios secundarios o artefactos debidos a la sequedad por aire.

La empresa estadounidense Sigma-Aldrich que comercializa los reactivos necesarios para la tinción de Papanicolaou reporta un rendimiento en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %

Se consultó el catálogo de precios de 2 distribuidoras mexicanas de productos químicos que ofrecen el equipo de colorantes de Papanicolaou en presentaciones de 500 ml y 1 Lt; Veteris \$2958 mxn presentación 500 ml y \$4732 mxn presentación de 1 Lt; Hycel \$3520 mxn presentación de 1 Lt. Estos equipos incluyen: Hematoxilina Harris, Papanicolaou OG-6, Papanicolaou EA-50 y Activador.

La tinción de Diff Quick es una variante comercial de la tinción de Romanowsky, es una técnica rápida y barata que, entre sus grandes ventajas está que en la preparación del frotis solamente se requiere de fijación al aire y la coloración se efectúa en un máximo de 45 segundos. Aunque los detalles del núcleo y del nucléolo no se perciben tan bien como con las de tipo Papanicolaou, estos suelen ser suficientes para diferenciar neoplasia de inflamación y para evaluar el potencial maligno en células neoplásicas. Ésta tinción consiste en el uso de 3 reactivos: Eosina Y colorante en una solución tamponada con fosfato en un pH de 6,6 y azida sódico como conservante; Colorante de tiazina en solución tamponada con fosfato con un pH 6,6 y Solución fijadora que contiene metanol.

Procedimiento:

1. Sumergir extendido en portaobjetos en el reactivo # 1 por 1 minuto
2. Sumergir extendido en portaobjetos en el reactivo #2 por 1 coloración minuto
3. Sumergir extendido en portaobjetos en el reactivo # 3 por 1 minuto
4. Realizar un lavado rápido de la lámina con extendido en agua.

El laboratorio Hycel ofrece el kit de reactivos de 100 ML por \$1068 mxn

Resultados

La evaluación del método de tinción se realizó de acuerdo a los niveles de celularidad y claridad que presentaron para el correcto diagnóstico neoplasias y estado del ciclo estral.

Nivel	Interpretación
0 (0)	<i>Nula</i> ; En este nivel hay un 0% de celularidad ya que no se logran observar las células.
1 (+)	<i>Mínimo</i> ; En este nivel hay poca claridad y cantidad celular observable, La cantidad celular oscila entre el 1 y 10 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.
2 (++)	<i>Regular</i> ; En este nivel se observa una claridad y cantidad celular observable intermedia, La cantidad celular oscila entre el 20 y 30 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.
3 (+++)	<i>Buena</i> ; En este nivel se observan muchas células con nitidez la cantidad celular oscila entre el 30 y 50 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.
4 (++++)	<i>Excelente</i> ; En este nivel se observan bastantes células con mucha nitidez, La cantidad celular oscila entre el 60 y 100 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.

Tabla 1. Interpretación de los parámetros de cantidad y claridad celular. (Carrasco, C. 2013).

CLARIDAD	AM	%	GM	%	D.Q	%	PAP	%
0	1	2	0	0	0	0	3	6.1
+	24	49	9	18.4	5	10.2	5	10.2
++	13	26.5	21	42.9	13	26.5	4	8.2
+++	11	22.5	16	32.6	18	36.8	2	4.1
++++	0	0	3	6.1	13	26.5	35	71.4
TOTAL	49	100	49	100	49	100	49	100

Tabla 2. Porcentaje de claridad celular observado en diferentes tinciones. AM= Azul de metileno, GM= Giemsa, D.Q=Diff Quick y PAP= Papanicolaou (Carrasco, C. 2013).

En la tabla 2 se observa que la tinción de Azul de metileno tuvo un 49% de claridad en el nivel 1, Giemsa 42.9% en el nivel 2, Diff Quick 36.8% en el nivel 3 y Papanicolaou 71% en el nivel 4 (excelente) por lo que es la tinción con mejor claridad celular relacionada a la cantidad observable.

La tinción azul de metileno da un detalle excelente del núcleo y el nucléolo pero no permite poner en evidencia las afinidades de coloración de las células vaginales, por lo tanto, la interpretación del frotis se basa en su forma y en la visualización de su núcleo permitiendo

errores relevantes en la interpretación, las tinciones de tipo Romanowsky Giemsa y Diff Quick, tiñen de forma excelente los órganos y el citoplasma de las células y con menor nitidez al núcleo y nucléolo, la tinción Papanicolaou es policromática, tiñendo de forma óptima el núcleo y el citoplasma, lo que proporciona mayor detalle que otras tinciones en las características celulares, dando pie a una diferenciación y clasificación celular excelente (Carrasco, C. 2013).

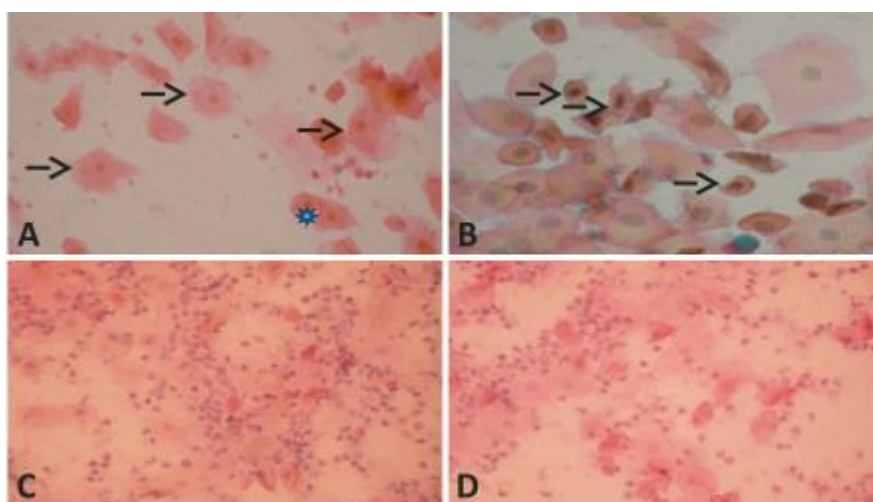
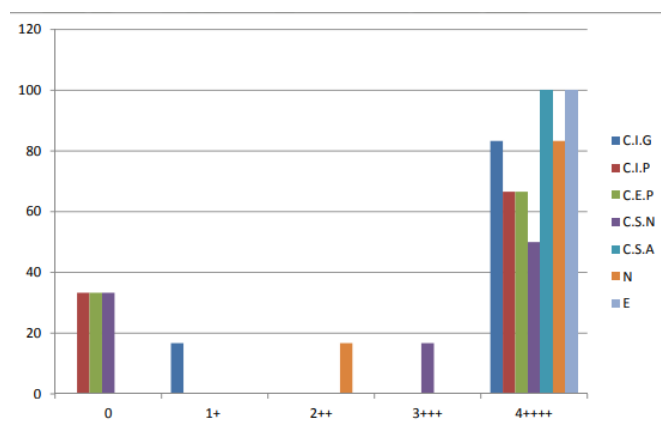
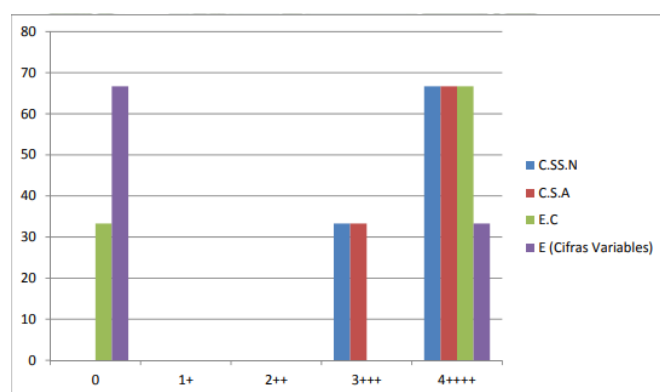


Figura 1. Citología vaginal de oveja, tinción papanicolaou

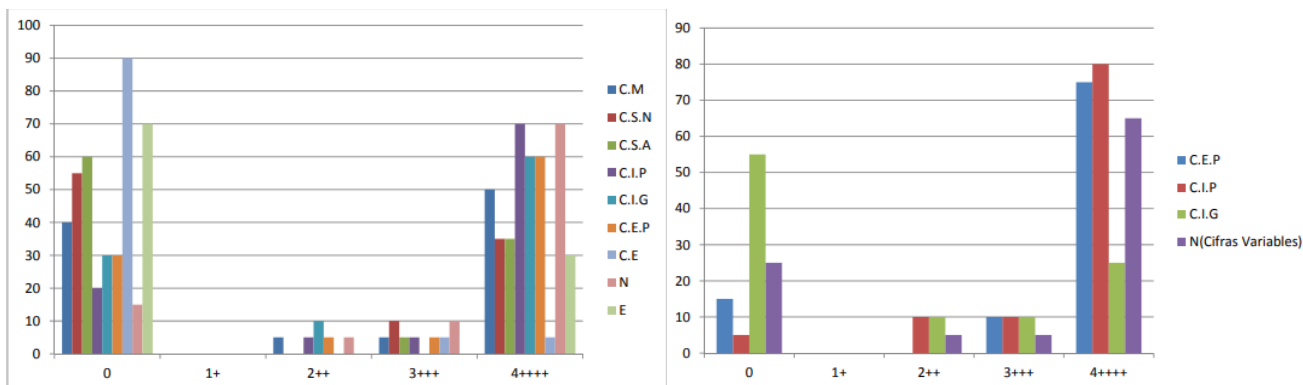
Para el diagnóstico del ciclo estral, en el estudio de Carolina Carrasco, 2013, se puso a prueba la tinción de Papanicolaou para evaluar la celularidad obtenida en cada etapa, a continuación, se presentan gráficamente los resultados:



Gráfica 1. Celularidad en proestro con tinción de Papanicolaou



Gráfica 2. Celularidad en estro con tinción de Papanicolaou



Gráfica 3. Celularidad en diestro con tinción de Papanicolaou Gráfica 4. Celularidad en anestro con tinción de Papanicolaou

Tipos de Células; Abreviatura: Célula Epitelial Parabasal C.E.P; Célula Intermedia Grande C.I.G; Célula Intermedia Pequeña C.I.P; Célula Superficial Nucleada C.S.N; Célula Superficial Anucleada C.S.A; Escamas Celulares E.C; Célula Metaestral C.M; Célula Espumosa C.E; Eritrocitos E; Neutrófilos N

En cada etapa, la tinción de Papanicolaou permitió observar una celularidad de nivel 4 ++++ siendo este el nivel de mayor cantidad observable del tipo celular que corresponde a la etapa del ciclo estral presente.

En el caso de neoplasias cervicouterinas, el tumor venereo transmisible (TVT) es de presentación frecuente en perras sin control reproductivo y es donde se hace más énfasis para la utilización de la citología con tinción de Papanicolaou pues el alto detalle celular es lo que se necesita para identificar las células con criterios de malignidad presentes.

NEOPLASIAS	AM	%	GM	%	D. Q	%	PAPA	%
TVT	0	0%	0	0%	2	100%	2	100%
TOTAL DE HEMBRAS EVALUADAS 2								

Tabla 3. Detección de células cancerígenas compatibles con TVT. (Carrasco, C. 2013).

Sólo en las tinciones de Papanicolaou y Diff Quick se detectó el 100% de muestras positivas a TVT por su buen detalle nuclear y citoplasmático.

La tinción de Papanicolaou presenta significativas ventajas sobre el segundo lugar, Diff Quick al brindar mayor detalle nuclear y citoplasmático pues permite diferenciar una célula neoplásica de otra con algún proceso inflamatorio. Por lo que será la coloración de elección para el diagnóstico de neoplasias cervicouterinas.

La desventaja observada es que requiere más tiempo de preparación y más reactivos. Además de que la interpretación puede hacerse sólo con el ojo humano, por lo tanto, la

experiencia y conocimiento del observador es un factor determinante para el margen de error de la prueba.

Discusión

La detección temprana de las fases del ciclo estral en caninos es de gran importancia para el control de la actividad reproductiva, un correcto diagnóstico del momento óptimo para inseminar o dar monta a la hembra reduce significativamente el rango de error para lograr una gestación exitosa, lo cual evita pérdidas económicas al propietario y evita el manejo innecesario de la hembra. Ya que la presencia e intensidad de signos clínicos durante el estro es variable en cada individuo, se recurre a la citología vaginal para determinar por medio del tipo y cantidad celular presentes en el tejido cervical, la fase del ciclo estral en el que se encuentra, conocer la actividad hormonal presente e informar el momento ideal para buscar la gestación de la perra. El diagnóstico del ciclo estral con la tinción de Papanicolaou fue de alta especificidad pues se observó una muy buena claridad y celularidad en todas las fases. Para el diagnóstico del TVT pese a que tanto Diff Quick como Papanicolaou tuvieron 100% de asertividad, la muestra fue muy pequeña para afirmar el uso indistinto de ambas, mas con la revisión bibliográfica se determina que lo óptimo en el diagnóstico de neoplasias es usar a coloración de Papanicolaou.

En las bibliografías consultadas, los autores establecen porcentajes de sensibilidad y especificidad diferentes desde muy buenos, 92.3% y 98.7% respectivamente (Calera, 2024). Como de bajo valor diagnóstico por la “alta subjetividad” del observador dándole un porcentaje de sensibilidad de 78.5% (Sempere, 2006). Otro dato fue de poca sensibilidad 30.6%, pero alta especificidad 88.4% (Rosado, 2014). De acuerdo a lo analizado, esta diferencia en la evaluación del rendimiento de la prueba puede deberse a la falta de estandarización del método de coloración y a la discrepancia en la interpretación citológica inter-observadores.

La persona responsable de emitir el diagnóstico de laboratorio sobre la citología vaginal, debe ser responsable en el estudio de la identificación y diferenciación de las células del tejido vaginal, pues la subjetividad diagnóstica a la que se refieren los autores es la única herramienta que se tiene al momento para interpretar una prueba de papanicolaou.

Conclusiones

Se logró reconocer la importancia de la tinción de Papanicolaou en la citología vaginal de la práctica veterinaria, sus ventajas sobre otros métodos de tinción teniendo el porcentaje más alto de claridad y celularidad, seguido del método de Diff Quick por lo que se determina que estos serían los métodos de elección para teñir una muestra de citología vaginal en el diagnóstico del ciclo estral y cáncer cervicouterino.

Bibliografía

García C. Alexandra., Andrade R. Jesús David. (2021). Caracterización de las Coloraciones Wright, Diff Quick y Hemacolor en Muestras Citológicas de Diferentes Tipos de Lesiones Cutáneas en Caninos. <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/8f5cd14e-2e67-4676-95e7-fcd5bc19bddc/content>

Llanes Torres, M., Pérez Rumbaut G., Mesa Montero, Z. (2021). Colorantes más usados en el estudio de estructuras tisulares. [https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/view/465/345#:~:text=El%20fundamento%20de%20la%20coloraci%C3%B3n,sustancia%20colorante%20determinada%20\(2\).](https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/view/465/345#:~:text=El%20fundamento%20de%20la%20coloraci%C3%B3n,sustancia%20colorante%20determinada%20(2).)

Carrasco Macedo Carolina. (2013). Estudio comparativo de cuatro métodos de coloración (azul de metileno, giemsa, diff quick y papanicolaou) usados en colpocitogramas caninos para valorar cambios citológicos durante el estro en perras y su aplicación en el diagnóstico de neoplasias vaginales y uterinas, en el distrito de jose luis bustamante y rivero. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/items/f077616f-efbe-4e4f-898b-8402712ffa8e>

Msc. Dai García. (2019). Evolución de la citopatología ginecológica. <https://www.citorushtc.com/post/evoluci%C3%B3n-de-la-citopatologia-ginecologica>

Torres, M., Peraza, B., Fabré Y., Rodríguez, J., et al. (2015). Frecuencia de presentación de neoplasias en caninos del municipio San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba. *Revista de Salud Animal*, 37(1), 39-46. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2015000100006&lng=es&tlng=es.

Oddo, David. (s.f). Vida y obra de uno de los médicos más conocidos del siglo xx (I y II partes). <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/histologia/georgenicholaspapanicolaou.pdf>

Núñez, G., Aparicio, C., Villalobos, N. et al. (2022). Prevalencia y distribución de tumor venéreo transmisible en perros de una comunidad rural en México. <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/download/2651/4886>

Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Manual de Procedimientos. (2006). Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical. <https://citopatologia.org/wp-content/uploads/2019/03/tincion.pdf>

Virbac. (s.f). Atlas de citología vaginal. <https://vet-es.virbac.com/files/live/sites/virbac-b2b-es/files/recursos-material-promocional/Folletos%20AC/Alizin-Atlas-citologia-vaginal.pdf>

Caldera HFM, Torres SQL, Stern-Colín NJJ. Sensibilidad y especificidad del Papanicolau con citología líquida para la detección de lesiones cervicales. *Acta Med GA*. 2024; 22 (2): 100-103. <https://dx.doi.org/10.35366/115281>

Sampere, V. (2006). Límites del test de Papanicolaou. REV ESP PATOL 2006; Vol 39, n.º 1: 63-64
<https://www.elsevier.es/es-revista-vigilia-sueno-270-pdf-S1699885506700137>

Rosado, M., Ocon, R., Navarrete, P & Loayza, M. (2014). Utilidad de la citología e inspección visual con ácido acético en la detección de lesiones neoplásicas de cuello uterino Centro Médico Oncomujer 2013-2014. Lima, Perú. <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v17n4/a03v17n4.pdf>



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN LA
EVIDENCIA (MLBE) APLICADA A LA PRACTICA
VETERINARIA

“METODOS DE EVALUACIÓN E INTERPRETACIÓN
DE TRIPSINA EN CANINOS”

RODRÍGUEZ CHÁVEZ MICHELLE

DR. GUILLERMO VALDIVIA ANDA

DRA. GRACIELA CASTAÑEDA ACEVES

INDICE	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
MARCO DE REFERENCIA	8
MATERIAL Y METODOS	11
RESULTADOS	18
DISCUSION	21
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFIA	24

INTRODUCCIÓN

La evaluación e interpretación de la tripsina en caninos es un área de interés en la veterinaria, especialmente para el diagnóstico de trastornos pancreáticos.

La tripsina es una proteasa, una clase de enzimas que catalizan la descomposición de proteínas en péptidos y aminoácidos. Su función principal ocurre en el intestino delgado, donde participa en la digestión de proteínas alimenticias para facilitar su absorción y aprovechamiento por el organismo. (Geneser, 2007)

Se produce en el páncreas como una proenzima inactiva llamada tripsinógeno. Este precursor inactivo es secretado en el intestino delgado, donde es convertido en su forma activa, tripsina, por la acción de la enzima enteropeptidasa, que se encuentra en la mucosa intestinal. La tripsina activa luego puede actuar sobre diversas proteínas y también tiene la capacidad de activar otras proenzimas pancreáticas, como el quimotripsinógeno y el procarboxipeptidasa, asegurando una digestión proteica eficiente. (Strombeck y Guilford, 1995)

Actúa sobre enlaces peptídicos específicos en las proteínas, principalmente rompiendo enlaces en los sitios de aminoácidos básicos como lisina y arginina. Esta acción convierte las largas cadenas de proteínas en fragmentos más cortos, llamados péptidos, que posteriormente son descompuestos en aminoácidos individuales por otras enzimas digestivas. (Geneser, 2007)

La función digestiva es esencial para la nutrición, ya que permite la liberación de aminoácidos que son cruciales para la síntesis de proteínas corporales, la producción de hormonas, y la reparación de tejidos. Sin una actividad enzimática adecuada, se producirían deficiencias nutricionales y problemas digestivos. (Strombeck y Guilford, 1995)

Además de su rol en la digestión, también tiene aplicaciones en la investigación científica y en la industria. En laboratorios, se usa para la digestión de tejidos y células en estudios de biología celular y molecular. En la industria, la tripsina se emplea en la producción de alimentos, la fabricación de productos farmacéuticos y en la elaboración de productos de biotecnología. (Dyce, 2012).

ANTECEDENTES

La evaluación de la tripsina en caninos es crucial para diagnosticar y gestionar diversas condiciones gastrointestinales y pancreáticas. La tripsina es un indicador importante de la función pancreática, y su medición puede ayudar a identificar problemas como la pancreatitis, la insuficiencia pancreática exocrina y otras enfermedades relacionadas. Existen varios métodos para evaluar y interpretar los niveles de tripsina en caninos, cada uno con sus propias características y aplicaciones. (Tams.1998).

PANCREATITIS

El páncreas es un poderoso reservorio de enzimas digestivas, aminas vaso activas, de la familia las cininas y productos que influyen en la función miocárdica y pulmonar (factor depresor miocárdico y factor de pulmón de choque). Además, dentro del páncreas inflamado se elaboran otros péptidos y fragmentos enzimáticos que son muy vasoactivos y tóxicos para los tejidos. Es la generación de este “caldo tóxico” la que produce inicialmente la lesión pancreática local y luego provoca una multitud de signos sistémicos y anormalidades bioquímicas. Los acontecimientos iniciales de la pancreatitis no se conocen totalmente, pero están implicados el daño de la membrana de las células acinares (permeabilidad) y la activación intrapancreática del tripsinógeno. (Hardy, 1992)

Por motivos desconocidos, los zimógenos se fusionan con las proteasas lisosomales. Cuando esto sucede, el tripsinógeno es activado hasta tripsina. Esta enzima es bastante eficaz a su auto hidrólisis, por lo que la activación de pequeñas cantidades de tripsina no tiende a ser catastrófica. Sin embargo, si se produce una activación significativa, las células acinares contienen un inhibidor de la tripsina específico, el inhibidor de la tripsina secretora pancreática (PSTI), que se sintetiza, almacena, y se secreta junto con otras enzimas digestivas. Su funcionalidad se ve reducida a los bajos niveles de pH de las vacuolas (Birchard y col, 2002).

Durante la pancreatitis aguda, la tripsina libera dos importantes poli-péptidos vaso activos, la calicreina y bradisinina; ambos compuestos se presentan en alta concentración dentro del páncreas. Es posible detectar un incremento de la bradisinina circulante dentro de las 3 horas después de inducir pancreatitis canina de forma experimental. Estas sustancias causan vasodilatación, hiperpermeabilidad capilar, hipotensión, infiltración

leucocitaria y dolor. Investigaciones recientes determinaron que un material del tipo prostaglandina E se presenta en altos niveles en el efluente venoso pancreático y exudado ascítico formado durante la enfermedad pancreática (Hardy, 1992).

INSUFICIENCIA PANCREATICA EXOCRINA

Es la incapacidad del páncreas para segregar la cantidad adecuada de enzimas que aseguren una digestión normal. La causa más frecuente es la atrofia idiopática de la células acinares pancreáticas, que según los últimos estudios tiene un origen inmunomediado y en algunas razas puede ser hereditaria. Es típica de perros jóvenes de menos de 2 años de edad y especialmente del Pastor Alemán y del Collie de pelo duro. En animales de mediana edad y de edad avanzada, la IPE puede ser causada por pancreatitis crónica (es la forma más frecuente en el gato) o por pancreatitis aguda recurrente. En algunos casos la IPE puede presentarse secundariamente debido a procesos que interfieren con la secreción de enzimas por el páncreas (obstrucción del conducto pancreático por procesos inflamatorios o tumorales), o con la activación de enzimas en la luz intestinal (hiperacidez duodenal, falta de colecistoquinina, enteroquinasa duodenal o ácidos biliares). Este déficit de actividad enzimática da lugar a un cuadro de maldigestión, de forma que los nutrientes no pueden ser absorbidos en el intestino delgado, provocando un acumulo de carbohidratos y grasas en el lumen intestinal, con la correspondiente fermentación bacteriana, hidroxilación de ácidos grasos y precipitación de los ácidos biliares, acidificación del medio y sobrecrecimiento bacteriano. (Hall, 2003; Timoleon, 2004; Tams, 2005)

Otras anormalidades reconocidas incluyen alteraciones en la homeostasia de la glucosa, por ejemplo, intolerancia subclínica a la glucosa (Rogers et al., 1983). Igualmente alteración en los péptidos reguladores gastrointestinales y pancreáticos como el polipéptido intestinal vasoactivo, polipéptido inhibidor gástrico, somatostatina y polipéptido pancreático (Hellmann et al., 1991), y en la regulación del crecimiento de la mucosa entérica, síntesis y de gradación de enzimas (Batt et al., 1979; Sorensen et al., 1988; Simpson et al., 1989b)

Casi todo el tripsinógeno, una inactiva preforma (cimógeno) de tripsina, es secretado hacia el intestino delgado, sin embargo, una pequeña cantidad es liberada dentro del espacio vascular y puede ser determinado por radioinmunoanálisis (Hall, 2003).

Contexto Histórico de la Evolución de las Pruebas de Tripsina

1. Primeros Métodos de Evaluación Pancreática

Métodos Indirectos (Hasta la Década de 1980):

- **Evaluación Clínica y Signos Clínicos:** Antes de las pruebas específicas para tripsina, los diagnósticos pancreáticos se basaban en la observación de signos clínicos como pérdida de peso, diarrea crónica y malabsorción. Estas observaciones eran indicativas, pero no proporcionaban un diagnóstico preciso de la función pancreática.
- **Pruebas de Digestión:** Se utilizaban métodos indirectos, como la evaluación de la digestión de alimentos en las heces y pruebas generales de absorción, que no eran específicos para la tripsina ni para la función pancreática. (Dossin 2011)

2. Desarrollo de Métodos Directos para Evaluar la Tripsina

Introducción de la Prueba de Tripsina en Heces (Década de 1970):

- **Prueba de Tripsina en Heces:** Este método fue uno de los primeros intentos de medir la actividad de la tripsina directamente en el tracto gastrointestinal. La medición de tripsina en heces ayudaba a evaluar la producción de enzimas pancreáticas y proporcionaba una indicación indirecta de la función pancreática.
- **Limitaciones:** Aunque útil, este método tenía limitaciones en términos de sensibilidad y especificidad. Además, la interpretación de los resultados a menudo requería el contexto clínico del paciente. (Dossin 2011)

Desarrollo de la Prueba de Inmunorreactividad Similar a la Tripsina (TLI) (Década de 1980):

- **Innovación y Validación:** La introducción de la prueba TLI marcó un avance significativo en el diagnóstico de insuficiencia pancreática exocrina (IPE). La prueba TLI mide los niveles de tripsina y tripsinógeno en suero utilizando técnicas de inmunoensayo, como ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas).
- **Aporte Clínico:** La prueba TLI fue validada como una herramienta altamente sensible y específica para diagnosticar IPE en caninos, proporcionando una medición directa de la actividad de tripsina y su precursor. (Dossin 2011)

3. Avances en Tecnología y Diagnóstico (Décadas de 1990 y 2000)

Mejoras en la Tecnología de Ensayo:

- **Automatización y Precisión:** Con el avance de la tecnología de laboratorio, las pruebas TLI se han vuelto más precisas y automatizadas. La introducción de técnicas más avanzadas de análisis ha mejorado la velocidad y la exactitud de las pruebas de tripsina.
- **Desarrollo de Nuevas Técnicas:** A medida que la tecnología ha avanzado, también se han desarrollado métodos más refinados y sensibles para medir la tripsina y otras enzimas pancreáticas.

Investigación y Aplicaciones Clínicas:

- **Investigaciones Adicionales:** Se ha llevado a cabo una investigación adicional para entender mejor las variaciones en los niveles de tripsina y su relación con diversas condiciones clínicas. Esto ha llevado al desarrollo de métodos complementarios y enfoques más integrales para evaluar la función pancreática.
- **Aplicaciones Clínicas Ampliadas:** Las pruebas de tripsina, especialmente la TLI, se han integrado de manera más generalizada en la práctica clínica veterinaria para diagnosticar y gestionar trastornos pancreáticos.

4. Estado Actual y Tendencias Futuras (Desde 2010 en Adelante)

Innovaciones en Diagnóstico:

- **Nuevas Tecnologías y Métodos:** La investigación continua está centrada en mejorar aún más las pruebas de tripsina, explorando nuevas tecnologías y métodos que podrían ofrecer diagnósticos más rápidos y precisos.
- **Enfoques Combinados:** Se está investigando la combinación de pruebas de tripsina con otras evaluaciones diagnósticas para obtener una imagen más completa de la función pancreática y mejorar la precisión diagnóstica.

Desarrollo de Terapias y Manejo Clínico:

- **Tratamientos Avanzados:** Con el mejoramiento de los métodos de diagnóstico, también se están desarrollando nuevas estrategias de tratamiento para IPE y otras enfermedades pancreáticas en caninos.

- Monitoreo y Evaluación Continua: La evolución en las pruebas de tripsina también ha llevado a un mejor monitoreo y manejo de las condiciones pancreáticas, permitiendo ajustes más precisos en el tratamiento y la atención.

MARCO DE REFERENCIA

Contexto Teórico

Función de la Tripsina en la Digestión:

- La tripsina es una enzima proteolítica esencial producida en el páncreas y liberada en el intestino delgado, donde descompone proteínas en péptidos más pequeños y aminoácidos. Su función es crucial para la digestión y absorción de proteínas.
- Producción y Activación: La tripsina se produce en forma de tripsinógeno, que se activa en tripsina en el intestino delgado mediante la enteropeptidasa. Esta enzima también activa otras proenzimas pancreáticas. (Kirk, 2000)

Importancia Clínica de la Tripsina:

- Insuficiencia Pancreática Exocrina (IPE): La IPE se caracteriza por una producción insuficiente de enzimas digestivas, incluyendo la tripsina. Esto puede llevar a malabsorción de nutrientes y síntomas clínicos como diarrea y pérdida de peso.
- Pancreatitis: La inflamación del páncreas puede alterar la producción y liberación de tripsina, afectando los niveles séricos y en heces. (Webster, 2008).

Revisión de Literatura

Métodos de Evaluación de Tripsina:

1.- Prueba de Inmunorreactividad Similar a la Tripsina (TLI)

Desarrollo y Validación:

- Historia: La prueba de inmunorreactividad similar a la tripsina (TLI) fue introducida en la década de 1980. Fue desarrollada como una herramienta para diagnosticar la insuficiencia pancreática exocrina (IPE) al medir la concentración de tripsina y su precursor, el tripsinógeno, en suero.
- Método: La prueba TLI utiliza técnicas de inmunoensayo, como el ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), para detectar y cuantificar niveles de tripsina y tripsinógeno en el suero. La medición se realiza mediante la utilización de anticuerpos específicos que se unen a estas proteínas.

- Validez: La TLI ha sido ampliamente validada en estudios clínicos y es considerada el estándar de referencia para el diagnóstico de IPE en caninos debido a su alta sensibilidad y especificidad. (Bancroft. 2010).

Aplicaciones Clínicas:

- Diagnóstico de IPE: La TLI es utilizada para confirmar la insuficiencia pancreática exocrina, una condición en la que el páncreas no produce suficientes enzimas digestivas. Los niveles bajos de TLI en suero son indicativos de IPE.
- Monitoreo de Tratamientos: También se emplea para monitorear la respuesta a tratamientos en caninos con IPE, evaluando si los niveles de tripsina se normalizan con la terapia enzimática adecuada. (Bancroft. 2010).

Limitaciones:

- Variabilidad en los Resultados: Existen algunas variaciones en los resultados debido a factores como la dieta del animal, el estado clínico y el manejo de la muestra.

2.- Medición de Tripsina en Heces

Método y Aplicaciones:

- Desarrollo: La medición de tripsina en heces fue desarrollada como una alternativa para evaluar la función pancreática en el tracto gastrointestinal. Este método se basa en la detección de la tripsina en muestras de heces, reflejando la actividad enzimática pancreática.
- Uso Clínico: Aunque menos común que la prueba TLI, la medición de tripsina en heces puede ser útil en ciertos contextos clínicos para confirmar diagnósticos y evaluar la función pancreática. Se puede utilizar en combinación con otros métodos para obtener una visión más completa de la función pancreática (Smith. 2010).

Limitaciones:

- Sensibilidad: La sensibilidad de la medición de tripsina en heces puede ser menor que la de la prueba TLI. Además, los resultados pueden verse afectados por la calidad de las muestras y las variaciones en la digestión intestinal (Bancroft. 2010).

3.- Pruebas Funcionales Pancreáticas

Pruebas de Estimulación:

- Test de Estimulación con Secretina: Esta prueba evalúa la respuesta del páncreas a la secretina, una hormona que estimula la producción de bicarbonato pancreático. Aunque no mide directamente la tripsina, proporciona información sobre la función general del páncreas.
- Test de Estimulación con Colecistoquinina (CCK): Evalúa la respuesta pancreática a la colecistoquinina, que estimula la liberación de enzimas digestivas, incluida la tripsina. Aunque estas pruebas son más comunes en investigación, pueden ofrecer información adicional sobre la función pancreática. (Martin, 2015).

Limitaciones:

- Uso Clínico: Estas pruebas son más invasivas y menos comunes en la práctica clínica diaria debido a su complejidad y costo. Se utilizan más frecuentemente en estudios de investigación y en contextos clínicos específicos (Martin, 2015).

4.- Avances Recientes y Tecnologías Emergentes

Innovaciones en Tecnologías de Ensayo:

- Tecnologías Avanzadas: Con el desarrollo de tecnologías más avanzadas y la automatización en los laboratorios, las pruebas de tripsina, especialmente la TLI, se han vuelto más precisas y rápidas. Se han introducido mejoras en la sensibilidad y especificidad de estas pruebas (Anderson, (2018).
- Aplicaciones en Investigación: Se están explorando nuevas técnicas y métodos para medir la tripsina y otras enzimas pancreáticas, con el objetivo de mejorar la precisión diagnóstica y proporcionar nuevas herramientas para la evaluación de la función pancreática (Lee, 2020).

Tendencias Futuras:

Desarrollo de Nuevas Herramientas: La investigación continúa enfocándose en el desarrollo de herramientas de diagnóstico más sensibles y específicas. Se exploran métodos complementarios y nuevas tecnologías para ofrecer una visión más completa de la salud pancreática (Fitzgerald, 2023).

MATERIAL Y METODOS

En el presente artículo se utilizó una metodología de revisión de literatura, la cual consistió en tomar fuentes bibliográficas, tanto de libros como de artículos, y de estos, tanto científicos, de revisiones anteriores, de investigación y de casos clínicos, de los cuales se abstraigo la información más relevante.

Metodología de la Prueba de Inmunorreactividad Similar a la Tripsina (TLI)

1.- Preparación del Paciente

Preparación Preliminar:

- Ayuno: El animal debe estar en ayunas durante un periodo recomendado, generalmente de 8 a 12 horas, antes de la recolección de la muestra para evitar interferencias en los niveles de tripsina debido a la ingesta reciente de alimentos.
- Historial Clínico: Se debe recolectar un historial clínico detallado del animal, incluyendo síntomas, antecedentes de enfermedades, y tratamientos previos para evaluar la necesidad de la prueba.

2.- Recolección de la Muestra

Procedimiento de Obtención:

- Método de Muestra: Se obtiene una muestra de sangre del animal, preferiblemente de una vena periférica (por ejemplo, la vena cefálica, jugular o safena).
- Preparación de la Muestra: La sangre se recolecta en un tubo que contiene un anticoagulante, como EDTA o heparina, para evitar la coagulación. Se puede utilizar un tubo sin aditivos para obtener suero si se requiere.

3.- Procesamiento de la Muestra

Preparación del Suero:

- Centrifugación: La muestra de sangre se centrifuga para separar el suero de las células sanguíneas. Generalmente, la centrifugación se realiza a 3,000-4,000 rpm durante 10 minutos.
Almacenamiento: El suero se debe almacenar a -20°C o -80°C si no se puede analizar inmediatamente. El suero debe ser manejado con cuidado para evitar la degradación de las proteínas.

4.- Realización de la Prueba

Método de Ensayo:

- Inmunoensayo: La prueba TLI se realiza utilizando técnicas de inmunoensayo, como ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas). Esta técnica detecta y cuantifica los niveles de tripsina y tripsinógeno en el suero.
- Reagentes: Se utilizan anticuerpos específicos que se unen a tripsina y tripsinógeno. La reacción entre los anticuerpos y las proteínas objetivo produce una señal detectable, generalmente un cambio de color. (Webster, 2008).

Procedimiento de ELISA:

- Preparación del Placa: Se recubren placas de microtitulación con anticuerpos específicos contra tripsina y tripsinógeno.
- Incubación: Se añade el suero a los pocillos de la placa y se incuban para permitir la unión de las proteínas objetivo a los anticuerpos.
- Lavado: Se eliminan los componentes no específicos mediante lavados repetidos.
- Detección: Se añade un sustrato enzimático que reacciona con los anticuerpos unidos para producir una señal (generalmente un cambio de color) que se mide con un lector de placas. (Bancroft, 2010).

5. Análisis de Resultados

Interpretación:

- Niveles de Tripsina y Tripsinógeno: Los resultados se interpretan comparando los niveles de tripsina y tripsinógeno en el suero con los valores de referencia establecidos para caninos sanos.
- Valores de Referencia: Los niveles bajos de TLI en suero son indicativos de insuficiencia pancreática exocrina. Los valores de referencia pueden variar según el laboratorio, por lo que es importante utilizar los valores proporcionados por el laboratorio específico que realiza la prueba. (Webster, 2008).

Evaluación Adicional:

- Diagnóstico Clínico: Los resultados de la prueba deben interpretarse en conjunto con otros hallazgos clínicos y pruebas diagnósticas para confirmar la presencia de IPE y planificar el tratamiento adecuado. (Bancroft, 2010).

6.- Limitaciones y Consideraciones

Factores que Afectan la Prueba:

- Variabilidad de Resultados: Los resultados pueden variar según la dieta del animal, el estado clínico y el manejo de la muestra. Es importante seguir las instrucciones de preparación del paciente y manejo de la muestra cuidadosamente.
- Interferencias: La presencia de anticuerpos heterólogos u otros factores pueden interferir con la prueba, lo que puede afectar la precisión de los resultados.

Complementariedad:

- Uso en Conjunto: La prueba TLI es una herramienta valiosa pero no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico. A menudo se combina con otras pruebas diagnósticas y evaluaciones clínicas para obtener una imagen completa de la función pancreática del animal. (Webster, 2008).

Metodología de la Prueba de medición de tripsina en heces.

1.- Preparación del Paciente

Preparación Preliminar:

- Ayuno: El animal debe estar en ayunas durante un periodo recomendado, generalmente de 8 a 12 horas, antes de la recolección de la muestra para evitar interferencias en los niveles de tripsina debido a la ingesta reciente de alimentos.
- Historial Clínico: Se debe recolectar un historial clínico detallado del animal, incluyendo síntomas, antecedentes de enfermedades, y tratamientos previos para evaluar la necesidad de la prueba.

2.- Recolección de la Muestra

Método de Obtención:

- Obtención de Heces: La muestra de heces debe ser recolectada directamente del animal, preferiblemente en la mañana para asegurar la frescura. Se debe recolectar una muestra representativa y evitar la contaminación con tierra o materia extraña.
- Cantidad de Muestra: Se necesita una cantidad adecuada de heces para realizar la prueba, generalmente aproximadamente 5-10 gramos de heces.

Manejo de la Muestra:

- Almacenamiento Inmediato: La muestra debe ser colocada en un contenedor limpio y seco. Se debe evitar el almacenamiento prolongado a temperatura ambiente. Si la muestra no puede ser procesada inmediatamente, se debe almacenar a 4°C hasta su procesamiento.

3.- Procesamiento de la Muestra

Preparación de la Muestra:

- Homogeneización: Las heces deben ser homogenizadas para asegurar que la muestra sea representativa. Se puede utilizar un mortero y pistilo o un mezclador para esta tarea.
- Extracción de Tripsina: Se realiza una extracción de tripsina de las heces utilizando soluciones tamponadas. Esto generalmente se hace disolviendo las heces en una solución tamponada, seguido de centrifugación para separar las fracciones solubles.

4.- Realización de la Prueba

Método de Ensayo:

- Inmunoensayo: Similar a la prueba TLI, la medición de tripsina en heces puede realizarse mediante técnicas de inmunoensayo, como ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), que detecta y cuantifica la tripsina en la muestra de heces. (Webster, 2008).

Procedimiento de ELISA:

- Preparación de Placa: Se recubren placas de microtitulación con anticuerpos específicos para tripsina.
- Incubación: Se añaden las muestras de heces preparadas a los pocillos de la placa y se incuban para permitir la unión de la tripsina a los anticuerpos.
- Lavado: Se eliminan los componentes no unidos mediante lavados repetidos.
- Detección: Se añade un sustrato enzimático que reacciona con los anticuerpos unidos, produciendo una señal detectable que se mide con un lector de placas.

Alternativas: Además de ELISA, también se pueden utilizar métodos enzimáticos específicos para cuantificar la tripsina en heces.. (Bancroft. 2010).

5.- Análisis de Resultados

Interpretación:

- Niveles de Tripsina: Los resultados se interpretan comparando los niveles de tripsina en heces con los valores de referencia establecidos para caninos sanos. Niveles bajos de tripsina pueden ser indicativos de insuficiencia pancreática exocrina.
- Evaluación Clínica: Los resultados deben ser evaluados en conjunto con otros hallazgos clínicos y pruebas diagnósticas para confirmar el diagnóstico de IPE y planificar el tratamiento adecuado. (Webster, 2008).

Valores de Referencia: Los valores de referencia pueden variar entre laboratorios, por lo que es importante utilizar los valores proporcionados por el laboratorio que realiza la prueba. (Gordon, 2005).

6.- Limitaciones y Consideraciones

Factores que Afectan la Prueba:

- Sensibilidad: La sensibilidad de la medición de tripsina en heces puede ser menor en comparación con la prueba TLI. La calidad de la muestra y el manejo pueden afectar los resultados.

- Interferencias: Las heces pueden contener otros compuestos que interfieran con la prueba, por lo que es crucial seguir las instrucciones de procesamiento y manejo de muestras. (Bancroft. 2010).

Uso Complementario:

- En combinación con otras pruebas: La medición de tripsina en heces puede utilizarse en combinación con otras pruebas diagnósticas, como la TLI, para obtener una visión más completa de la función pancreática. (Gordon, 2005).

Metodología de la Prueba de Estimulación con Colecistoquinina (CCK)

1.- Preparación del Paciente:

Ayuno: El paciente debe estar en ayunas durante 12-24 horas antes de la prueba para asegurar que los resultados no se vean afectados por la ingesta de alimentos.

2.- Recolección de Muestras:

- Muestra Basal: Se obtiene una muestra de sangre o jugo pancreático antes de la administración de CCK para medir los niveles basales de enzimas pancreáticas.

Estimulación:

- Administración de CCK: Se administra CCK intravenosa al paciente. La CCK estimula la liberación de enzimas digestivas por parte del páncreas.

3.- Recolección de Muestras Post-Estimulación:

Muestra de Respuesta: Se obtienen muestras adicionales de sangre o jugo pancreático a intervalos específicos después de la administración de CCK para medir la respuesta en la liberación de enzimas.

4.- Análisis de Resultados:

Evaluación de Respuesta: Se comparan los niveles de enzimas en las muestras post-estimulación con los niveles basales. Una respuesta insuficiente puede indicar una disfunción pancreática, como insuficiencia pancreática exocrina. (Gordon, 2005).

Metodología de la Prueba de Estimulación Intraduodenal

1.- Preparación del Paciente:

- Ayuno: El paciente debe estar en ayunas para garantizar que la estimulación y los resultados no se vean alterados por la presencia de alimentos.

2.- Recolección de Muestras:

- Muestra Basal: Se obtiene una muestra del contenido duodenal o jugo pancreático antes de la estimulación.

Estimulación:

- **Administración de Estimulantes:** Se introduce una solución estimulante directamente en el duodeno. Esto puede incluir soluciones que contienen ácidos grasos, aminoácidos o sales biliares, que estimulan la liberación de enzimas pancreáticas. (Gordon, 2005).

3.- Recolección de Muestras Post-Estimulación:

- **Muestra de Respuesta:** Se recolecta el contenido duodenal o jugo pancreático en intervalos específicos después de la estimulación.

4.- Análisis de Resultados:

- **Evaluación de Secreción:** Se mide la cantidad de enzimas digestivas, como tripsina y lipasa, en el contenido recolectado. La respuesta insuficiente puede indicar una deficiencia en la función pancreática. (Miller, 2008).

Metodología de la Prueba de Evaluación de la Digestión de Alimentos

1.- Preparación del Paciente:

- **Ayuno:** Similar a otras pruebas, se recomienda que el paciente esté en ayunas para evitar interferencias de los alimentos.

2.- Administración de Comida:

- **Comida Estándar:** Se administra una comida estándar que contiene una cantidad conocida de nutrientes y marcadores.

3.- Recolección de Muestras:

- **Muestras de Heces y Sangre:** Se recolectan muestras de heces y sangre en intervalos específicos después de la comida para evaluar la digestión y absorción de nutrientes.

4.- Análisis de Resultados:

- **Evaluación de Digestión:** Se analizan las muestras para medir la presencia de nutrientes no digeridos en las heces y los niveles de nutrientes en la sangre. La presencia de nutrientes no digeridos puede indicar insuficiencia pancreática.

Consideraciones y Limitaciones

- **Invasividad y Costo:** Algunas pruebas funcionales, como las de estimulación con secretina y CCK, pueden ser invasivas y costosas, lo que limita su uso a contextos específicos o centros especializados. (Miller, 2008).

- Interferencias: Las condiciones del paciente, como infecciones o medicamentos, pueden afectar los resultados de las pruebas. Es importante considerar estos factores al interpretar los resultados. (Smith. 2010).

Complementariedad: Las pruebas funcionales pancreáticas a menudo se utilizan en combinación con otras pruebas diagnósticas para proporcionar una evaluación completa de la función pancreática. (Miller, 2008).

RESULTADOS

AGENTES	ACCION SOBRE EL PÁNCREAS
Colecistocinina (CCC)	Aumentan la secreción de enzimas pancreáticas y de líquido rico en HCO_3 y agua por parte de las células acinares.
Gastrina	
Acetilcolina	
Sustancia P	
Secretina	Aumenta la secreción de líquido rico en bicarbonato por parte de las células ductales.
Péptido intestinal vaso activó	
Péptido histidina isoleucina	
Insulina	Aumento de la síntesis y de la secreción de enzimas efectos tróficos.
Factores de crecimiento tipo	
Insulina (IGF)	
Somatostatina	Inhibe la secreción de las células acinares y ductales.

Tabla. 1- Reguladores químicos de la secreción pancreática exocrina. Modificado de Pocock, 2005.

Enzima	cimógeno	activador	acción
Tripsina	tripsinogeno	enterocinasa	hidrolizar uniones peptídicas.
Quimotripsina	quimotripsinogeno	tripsina	hidrolizar uniones peptídicas.
Elastasa	proelastasa	tripsina	hidrolizar uniones peptídicas.
Carboxipeptidasa	procarboxipeptidasa	tripsina	ataca extremo C-terminal.
Amilasa			digiere el almidón en maltosa
Lipasa			rompe los glicéridos.
Colipasa	procolipasa	tripsina	ancla la lipasa al lípido
Fosfolipasa A2	profosfolipasa	tripsina	separa a.g de fosfolípidos

Tabla 2- Enzimas pancreáticas. Tomado de Pocock, 2005.

Enfermedad	Folato	Cobalamina	*TLI
Insuficiencia pancreática exocrina	Aumentada o normal	Disminuida	Disminuida
Sobre crecimiento bacteriano	Aumentado	Disminuida	Normal
Enf. de intestino delgado proximal	Disminuido	Normal	Normal
Enf. del intestino delgado distal	Normal	Disminuida	Normal
Enfermedad difusa del intestino delgado	Disminuida	Disminuida	Normal

Tabla 5- Cambios en los resultados de laboratorio de la concentración de folato, cobalamina y de la inmunoreactividad por análogos a la tripsina que se produce en diversas enfermedades por mala asimilación. Tomado de Dossin, 2011.

*TLI (Tripsina inmunoreactiva sérica).

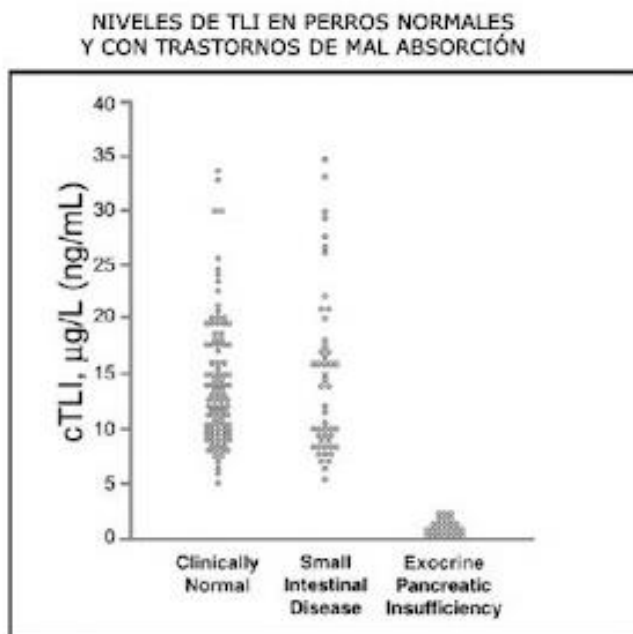


Figure 1. Serum cTLI in 100 clinically normal dogs, 50 dogs with small intestinal disease and 25 dogs with EPI. Redrawn from Williams et al. J Am Vet Med Assoc 1988; 192:195-201.

En pancreatitis, el diagnóstico mediante la TLI tiene un enfoque distinto, puesto que su elevación por sobre el valor de referencia ocurre en los 2-3 primeros días de evolución, siendo de utilidad en el diagnóstico precoz de la enfermedad y es fundamental para el pronóstico. Se recomienda usar TLI en conjunto con otras pruebas pancreáticas (lipasa y amilasa), lo que ayuda a precisar el diagnóstico.

Los perros sanos tienen una concentración sérica de TLI de 5,0 a 35,0 ng/ml, mientras que los perros con EPI en fase terminal, tienen niveles anormalmente bajos (<>)



Sin la actividad de estas enzimas, el resultado es una malabsorción con presencia de restos de alimentos sin digerir en las deposiciones del perro, el que si bien ingiere gran cantidad de alimentos, está permanentemente desnutrido. Sin un tratamiento adecuado, el paciente puede literalmente morir de hambre y desnutrición.

DISCUSIÓN

Según Tams (2005), existe cierta relación genética o predisposición en razas como el Pastor alemán, el Collie pelo largo y el Setter inglés; sin embargo no se puede considerar una norma general ya que a pesar de ser las razas en las que más se presenta la enfermedad, también ha sido reportada en otras razas. Pudiendo afectar a caninos de cualquier edad, donde el rango de edad más común en la clínica es entre 1 a 7 años, siendo antes de los 2 años la edad donde comienzan los signos clínicos, esta enfermedad puede darse tanto en hembras como en machos, no presenta predisposición de sexo.

Tams (2005) afirma que los perros que suelen acudir a la consulta por una diarrea crónica con heces voluminosas, con aspecto blando y coloración entre amarillenta y grisácea y por pérdida de peso entre moderada y extrema, acompañadas de un apetito voraz, atribuidos directamente a una disminución de las concentraciones intraduodenales de enzimas pancreáticas, bicarbonato y otros factores, lo cual provoca una malasimilación de las grasas, carbohidratos y proteínas. Estos son los signos más comunes por los cuales el propietario decide llevarlo al veterinario. Muchos perros presentan un deterioro del estado del pelaje (pérdida de pelo, eczema, sequedad, escamas) y, en ocasiones, se observa vómito, dolor a la palpación abdominal, flatulencia, polidipsia y una clara disminución de la masa muscular.

El primer plan diagnóstico para realizar por parte del médico veterinario al encontrarse con un cuadro de diarrea es el de realizar un coprológico, lo cual no está mal, ya que un coprológico nos indica presencia o ausencia de bacterias, parásitos, grasas neutras, almidones, tripsina fecal, alimento no digerido, entre otros. La presencia de almidón en las heces puede indicar deficiencia de amilasa, la presencia de fibras musculares no digeridas en los frotis fecales de animales con una dieta cárnica, indican deficiencia de proteasa. El aumento de grasa neutra es indicativo de mala digestión. Pero los resultados que arroja el coprológico no son sensibles ni específicos (Birchard, 2002). Al no encontrar un resultado específico en la muestra de materia fecal, o al tratarlo y obtener reincidencia de signos, el siguiente paso es realizar un perfil pancreático que en la mayoría de laboratorios.

Según Dossin (2011), la concentración de TLI es la prueba diagnóstica de elección para perros y gatos, se realiza mediante la confirmación de una concentración inferior a la normal de TLI en una muestra de suero tomada en ayunas. Se considera que la TLI sérica

procede únicamente del páncreas y constituye un indicador de la masa pancreática y de la inflamación. Además los perros que padecen de un trastorno del intestino delgado tienen concentraciones normales de TLI.

Kirk (2000) expone que en cuanto al tratamiento lo primordial es que se debe estar seguro del diagnóstico para así poder tratar al paciente de la mejor forma, el tratamiento suele basarse fundamentalmente en la suplementación del alimento con enzimas pancreáticas exógenas y en un manejo dietético adecuado. El problema se basa en que solo se suministra el suplemento en un periodo menor a dos semanas, llegando nuevamente con los mismos signos clínicos después de 3 meses debido a que esta enfermedad es crónica y el tratamiento debe ser sin tiempo de retiro, cuando se reemplaza las enzimas pancreáticas y se haya controlado la diarrea y el animal este ganando peso se debe ajustar la dosis mínima efectiva de mantenimiento, pero no tratarlo por periodos cortos.

CONCLUSIÓN

La evaluación de la tripsina es una herramienta valiosa en la diagnóstico y manejo de trastornos pancreáticos en perros, especialmente para la identificación de insuficiencia pancreática exocrina. La prueba de inmunorreactividad similar a la tripsina (TLI) es un método confiable y específico para detectar esta condición. Sin embargo, la interpretación de los resultados debe tener en cuenta las posibles variaciones y limitaciones, y debe integrarse en una evaluación clínica más amplia del paciente.

Es fundamental que los veterinarios mantengan un enfoque integral y utilicen múltiples herramientas diagnósticas para ofrecer el mejor cuidado posible a los perros con sospecha de enfermedades pancreáticas. La combinación de pruebas funcionales pancreáticas, evaluación clínica, y monitoreo continuo del tratamiento asegura una gestión efectiva de estas condiciones y mejora la calidad de vida de los pacientes caninos.

Es importante como en cualquier patología, llevar un seguimiento del paciente, realizando controles mensuales del paciente, ya que en la mayoría de perros es posible la disminución de la dosis inicial del suplemento enzimático y además generar en el propietario importancia tanto de él como de su mascota.

BBIBLIOGRAFIA

- Anderson, K. K., & Collett, A. (2018). Advances in diagnostic techniques for pancreatic disorders. *Journal of Veterinary Science and Technology*.
- Bancroft, K., & Irwin, J. (2012). Fecal tests for pancreatic function: Limitations and clinical relevance. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*.
- Birchard, S., Jhonson, S., Sherding, R. (2002) Enfermedades y cirugía del páncreas exócrino. En: Birchard, S., Sherding, R. Manual clínico de procedimientos en pequeños animales. 2a ed. Madrid, McGraw Hill Interamericana. p.1029 – 1038.
- DOSSIN, O. (2011). Laboratory tests for diagnosis of gastrointestinal and pancreatic diseases. Topics in companion animal medicine. Vol 26, número 2, mayo 2011.
- DYCE, K. (2007). Anatomía veterinaria. México: manual moderno.
- Dyce, K. (2012): Anatomía veterinaria, 4a ed. México, Manual moderno. 833 p.
- Fitzgerald, K. T., & Langston, C. E. (2023). Future directions in pancreatic disease diagnostics. *Veterinary Medicine Journal*.
- Geneser, F. (2007) Histología, 3a ed. Buenos Aires, Panamericana. 813 p.
- Gordon, K., & Belanger, M. (2005). "Evaluation of pancreatic function tests." *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*.
- Hall E. J . (2003). Exocrine pancreatic insufficiency. In World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings
- Hardy, M.R. (1992) The pancreas inflammatory pancreatic disease. En: Anderson, N.V. Veterinary gastroenterology. 2a ed, Philadelphia, Lea & Febiger. p. 275 – 294.
- Hess, R. S., & Saunders, H. M. (2002). Diagnosis and management of exocrine pancreatic insufficiency. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*.
- Kirk, R. W., & Bonagura, J. D. (2000). Clinical evaluation of the pancreatic function test. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.
- Lee, S. H., & Peddie, M. (2020). Emerging technologies in pancreatic diagnostics. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.
- Martin, M., & Witte, A. (2015). Functional pancreatic tests: History and current practices. *Veterinary Research Communications*.
- Miller, T. R., & Greenfield, J. (2008). "Pancreatic function tests: Clinical applications and interpretations." *Journal of Veterinary Internal Medicine*.
- Smith, A. C., & Gerding, S. D. (2010). Diagnostic approaches for gastrointestinal diseases in dogs. *Veterinary Gastroenterology*.

- Strombeck, D.R., Guilford, W.G. (1995) Enfermedades digestivas de los animales pequeños. 2ª ed. Buenos Aires, Intermédica. 796 p.
- Tams, T. (1998) Manual de gastroenterología en animales pequeños. 2a ed. Buenos Aires, Intermédica. 402 p.
- Tams, T. (2005). Manual de gastroenterología en animales pequeños. Segunda edición Intermédica. Buenos Aires. Argentina. 492 pp.
- Timoleon, S. (2004). Exocrine pancreatic insufficiency. In World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings.
- Webster, C. R., & Fletcher, D. J. (2008). Pancreatic function tests in veterinary medicine. *Veterinary Medicine International*.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“EVALUACIÓN DE ESTRÓGENOS SÉRICOS EN EL
DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍAS EN MACHOS Y HEMBRAS
CANINAS”

DIPLOMADO MEDICINA DE LABORATORIO BASADA EN
EVIDENCIA (MLBE) APLICADA A LA PRACTICA
VETERINARIA

PROFESORES:

MVZ GRACIELA CASTAÑEDA ACEVES

MVZ GUILLERMO VALDIVIA ANDA

ALUMNO:

MVZ VÍCTOR RUBÉN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

7 DE AGOSTO 2024

Índice

Introducción 1

Hipótesis..... 2

Material y métodos..... 2 – 10

Guía de las alteraciones

estrogénicas en hembras y machos caninos 11

Resultados 12

Conclusión..... 13 – 14

Bibliografía..... 15- 16

INTRODUCCIÓN

La elevación de estrógenos séricos es una herramienta importante en el diagnóstico de patologías en machos y hembras caninas. Los estrógenos son hormonas sexuales femeninas, pero también están presentes en machos y juegan un papel crucial en la regulación de la función reproductiva y de la salud ósea.

Fisiología de los estrógenos

El eje hipotalámico hipofisis gonadal, la GnRH es regulada centralmente por diversos neurotransmisores. Al ser secretada en el sistema porta-hipofisiario es transportada a la adenohipofisis donde se une a sus receptores en los gonadotropas hipofisiarios de este modo, estimula la liberación de LH y FSH, las cuales al unirse a sus receptores en sus órganos blanco, en las gónadas, estimulan la síntesis y secreción de hormonas sexuales.

El hipotálamo y la adenohipofisis (lóbulo anterior de la hipofisis) secretan proteínas y hormonas peptídicas que controlan la actividad gonadal.

La receptividad sexual viene determinada en la hembra por la interacción de las hormonas estrógeno y progesterona a partir de la acción de la hormona liberadora de la gonotropinas y por la testosterona en el macho.

Las enfermedades habituales que afectan de forma directa la glándula mamaria son la mastitis común en ganado lechero y la neoplasia frecuente en perras no castradas.

El aparato reproductor del macho se regula por medio del hipotálamo que está hormonalmente unido a la adenohipofisis y los testículos por la LH y la FSH.³

HIPOTESIS

Cuál es la importancia en la evaluación de estrógenos séricos en el diagnóstico de patologías en machos y hembras caninas.

MATERIAL Y METODOS

Al tratarse, de un trabajo de investigación documental se trabajará con fuentes digitales, se ha requerido una indagación profunda del tema a tratar para escoger la información más adecuada y relevante en el ámbito de la evaluación de estrógenos séricos en el diagnóstico de patologías en machos y hembras caninas.

Una de las mayores dificultades en este tipo de proyectos, es la gran cantidad de fuentes de información que existen y como consecuencia, el asegurarse de la veracidad de dicha información que se nos presenta es un arduo trabajo

Las principales fuentes bibliográficas que se han consultado a lo largo de este trabajo son los siguientes repositorios: 6

PubMed es un sistema de búsqueda desarrollado por la National Center Biotechnology Información (NCBI) en la National Library of Medicine (NLM) de Estados Unidos. Este sistema permite acceder a bases de datos recopiladas por MEDLINE, PreMEDLINE, Genbank y

Complete Genoma. Además, PubMed incluye acceso a textos completos de artículos de revistas y de libros electrónicos.

Google Académico (en inglés, **Google Scholar**) es un [motor de búsqueda](#) de [Google](#) enfocado y especializado en la búsqueda de contenido y bibliografía científico-académica.

La búsqueda inicial se basó, primeramente, en la consulta de cada enfermedad en todas las plataformas citadas anteriormente, para tener una visión global de cada una de ellas. Las palabras clave utilizadas fueron el nombre de cada una de las enfermedades.

La evaluación de estrógenos séricos está indicada en los siguientes casos:

Patologías reproductivas en hembras caninas.

Enfermedades endocrinas, síndrome de Cushing y el hipotiroidismo.

Tumores reproductivos como tumores en hembras ó testicular en machos caninos.

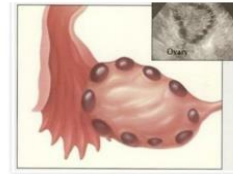
Enfermedad prostática.⁷

Patologías reproductivas en hembras caninas

Desórdenes del Ovario Desórdenes del útero canino Complejo Hiperplasia endometrial quística
Esta entidad se produce cuando restos de ovario han quedado en la bolsa ovárica luego de la cirugía o células ováricas se implantan en tejidos adyacentes. El tejido ovárico residual sigue funcional en el organismo, por lo que, luego de la castración quirúrgica, estos pacientes muestran signología de una hembra que cicla.⁸

5. Síndrome de ovario remanente

- En una paciente en edad reproductiva que ha tenido una salpingo-ooforectomía bilateral, con o sin una histerectomía .
- Ocurre donde la extracción incompleta de tejido ovárico puede resultar en el futuro en quistes pélvicos y en cuadro de dolor.



Diferenciar de **Síndrome de ovario residual** en el que un ovario intencionadamente dejado en su lugar durante la cirugía ginecológica eventualmente causa dolor abdominal.

Imagen 1 Tejido ovárico remanente.

Quistes foliculares Los quistes foliculares son estructuras ováricas que contienen un líquido seroso y se encuentran limitadas por una pared. Los mismos se desarrollan como consecuencia de un folículo ovárico que no llega a ovular, sigue en crecimiento y produciendo estrógenos. Las altas concentraciones de estrógenos séricos, se asocian a la ocurrencia de estro persistente, con los signos clínicos asociados a la estrogenemia presente. Es así que, la presencia de quistes foliculares predispone al desarrollo de ciertas entidades como hiperplasia endometrial quística-piometra, anemia arregenerativa, coagulopatías, etc.⁸

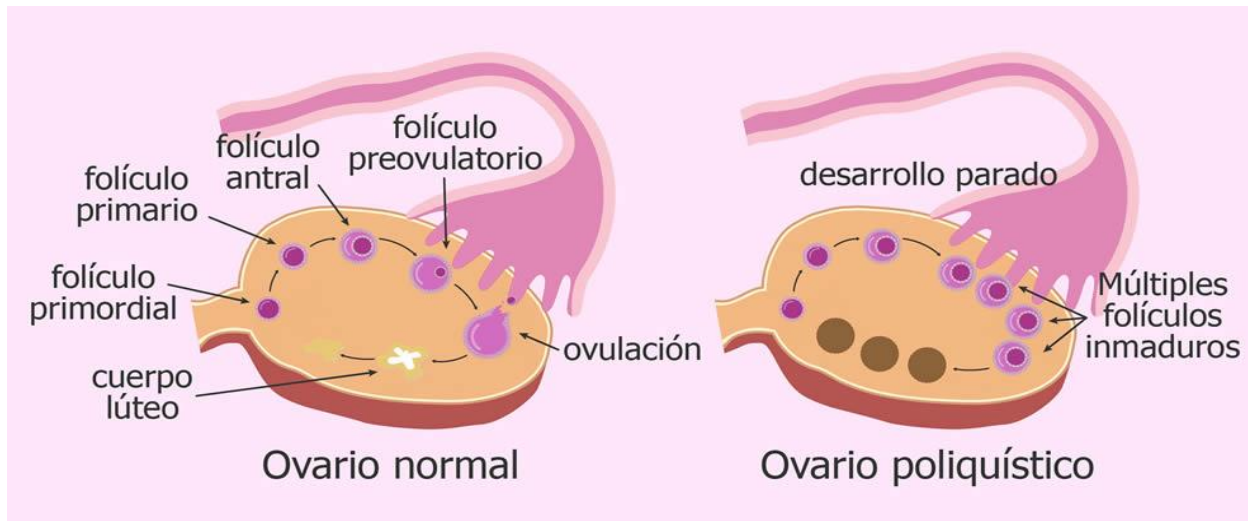


Imagen 2. Ovario poliquístico.

Tumores Ováricos Los tumores ováricos son de baja incidencia en la perra, y ocurren generalmente a edades avanzadas, excepto el teratoma, el cual se presenta a una edad promedio de 4 años.

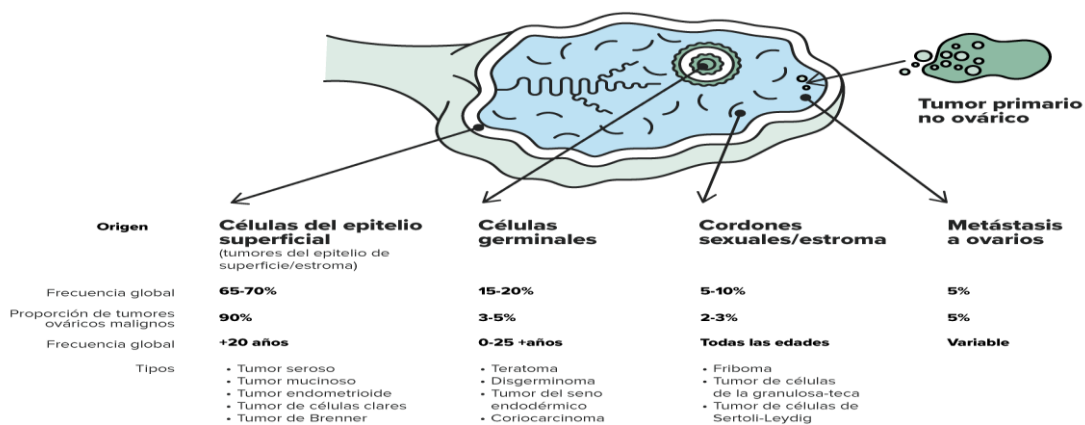


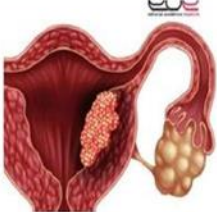
Imagen 3. Tumores ováricos.

Desórdenes del útero canino Complejo Hiperplasia endometrial quística-Piómetra El Complejo Hiperplasia Endometrial Quística- Piómetra es una afección hormono dependiente que afecta con más frecuencia a hembras sexualmente maduras, de edad media a avanzada (generalmente

mayores a 6 años) y/o a hembras jóvenes que han sido tratadas con progestágenos con el fin de evitar ciclos estrales y preñeces no deseada. La Hiperplasia Endometrial Quística (HEQ) es una entidad caracterizada por cambios en el endometrio relacionados principalmente con la acción de la progesterona (P4), pero también por la acción de los estrógenos sobre el útero lo que conduce al desarrollo de hiperplasia endometrial quística (HEQ). Una vez instaurada la HEQ si ocurre invasión y multiplicación bacteriana desarrolla una piometra. Esta es una de las afecciones reproductivas más importantes en la hembra canina, tanto por su prevalencia como por su morbilidad y mortandad. Constituye un problema que no solo compromete la capacidad reproductiva de la hembra, sino que pone en riesgo su vida, llevando muchas veces al deceso de la paciente.⁸

MANEJO DE LA HIPERPLASIA ENDOMETRIAL

- La hiperplasia puede sospecharse por un engrosamiento a nivel de la línea endometrial en una ecografía pélvica transvaginal y debe considerarse en pacientes peri o posmenopáusicas con historia de hemorragia uterina anormal; sin embargo el diagnóstico confirmatorio es histológico.
- Se divide en simple y compleja con o sin la presencia citológica de atipias. La presencia de atipias es 10 veces mas riesgo de carcinoma de endometrio comparado con la hiperplasia simple o compleja sin presencia de atipias, donde la progresión a cáncer es de 1.6%.
- Con el tratamiento hormonal con progestinas el 90% de las hiperplasias sin atipias tiende a regresar espontáneamente.



En la actualidad el tratamiento de la hiperplasia endometrial se divide en dos grupos: **medico y quirúrgico**. Para determinar cual de estas dos opciones se recomienda al paciente se debe evaluar:

- La edad
- Potencia de malignidad de la hiperplasia
- Comorbilidades medicas
- Y el deseo de fertilidad

CARACTERÍSTICAS DE LA HIPERPLASIA ENDOMETRIAL

CARACTERÍSTICAS DE LA HIPERPLASIA ENDOMETRIAL

- Aumento de la relación glándula- estroma
- Irregularidad en la forma glandular
- Dilatación glandular
- Ramificación glandular
- Vellosidades y crecimiento villoglandular
- Estructuras cribiformes
- Actividad mitótica variable

Tratamiento	Dosis y duración
• Acetato de medroxiprogesterona	10-20 mg diaria o cíclica 12-14 d/mes
• Medroxiprogesterona de deposito	150mg intramuscular c/ 3 meses
• Progesterona vaginal micronizada	100-200 mg diaria o cíclica 12-14 d/mes
• Acetato de megestrol	40-200 mg/día . Hiperplasia atípica
• Dispositivo liberador de levonorgestrel	1-5 años



Gomez Cisneros, Jean Franco

<https://www.revistamedicacountry.com/app/default/files-module/local/documents/Hiperplasia-endometrial.pdf>

Imagen 4. Desórdenes del útero canino Complejo Hiperplasia endometrial quística.

Endometritis o Metritis posparto Es una enfermedad del posparto en la cual se produce inflamación del endometrio y miometrio a causa de una infección bacteriana y suele manifestarse

luego de algunos factores predisponentes como falta de limpieza durante la ayuda del parto, distocia, retención placentaria y/o fetal, tejido uterino desvitalizado, entre otras (Kutzler, 2010). A diferencia de la piometra, la endometritis posparto se desarrolla en el periodo posparto, donde las concentraciones de progesterona son bajas, 399 siendo la causa determinante la contaminación bacteriana del útero en puerperio.⁸

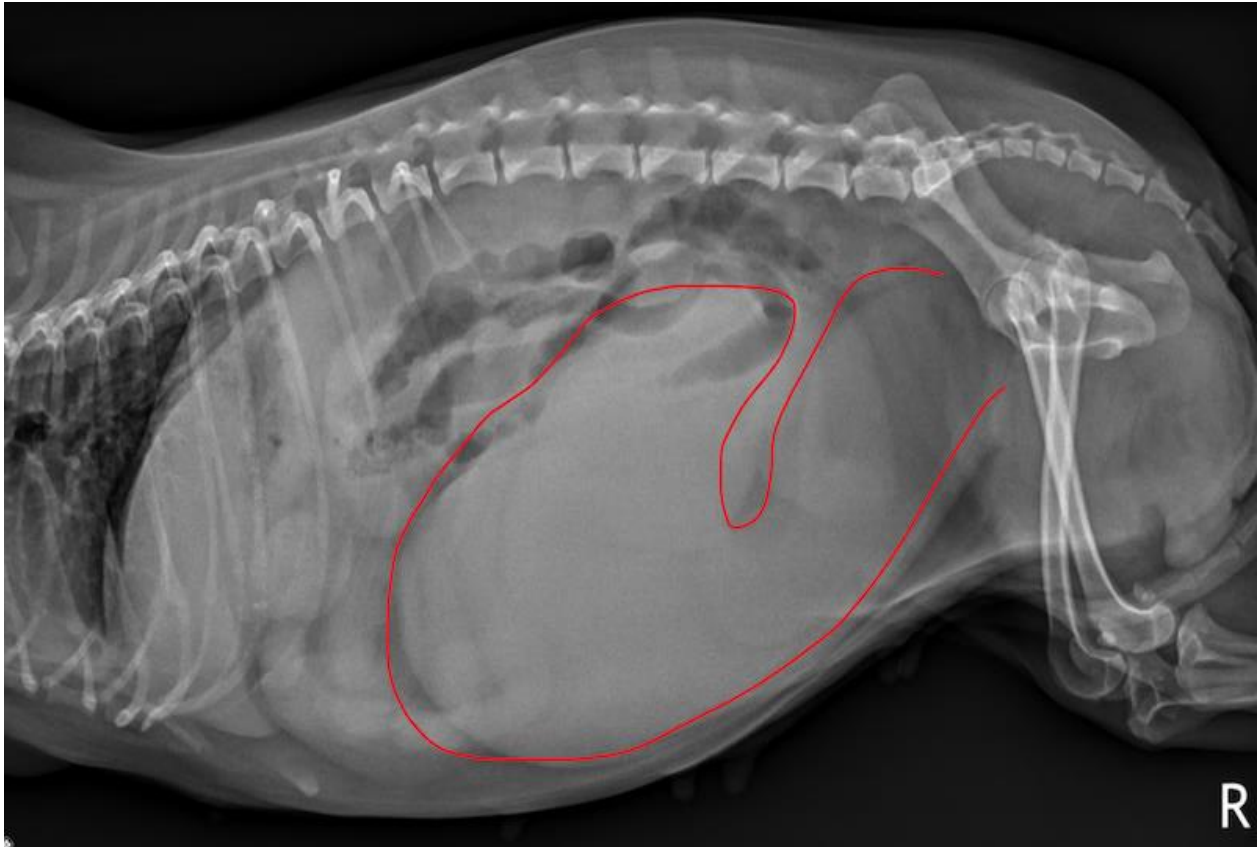


Imagen 6. Imagen radiográfica piometra canina.

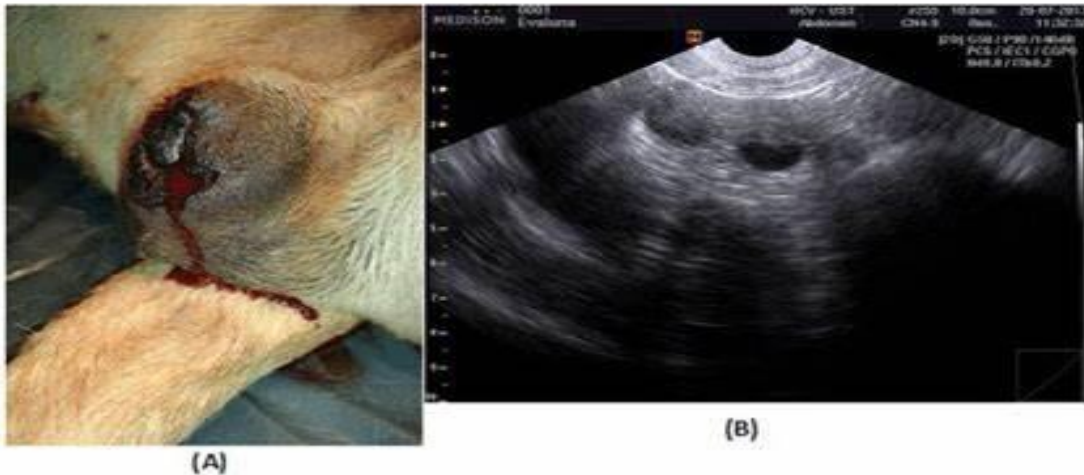


Figura 1. Perra Bullmastiff, nulipara, de 4.5 años, con historial de ciclos estrales irregulares, con secreción vaginal sanguinolenta por 15 días. (A) Vista de la zona vulvar con abundante secreción sanguinolenta y ausencia de edema vulvar; (B) Ecografía uterina donde se destaca un área central anecoica limitada por una pared ecogénica, característico de presencia de contenido.

Imagen 7. Endometritis o Metritis posparto.

Hiperplasia Vaginal Se produce a causa de una respuesta exagerada de la mucosa vaginal a los estrógenos. Como consecuencia de esta estimulación hormonal, se produce gran edema en la mucosa vaginal, lo que lleva a eversión de la mucosa vaginal. Se da generalmente en perras jóvenes, de talla grande y razas braquicéfalas.⁸

HIPERPLASIA VAGINAL

- Frecuentemente en perras jóvenes (2 a 3 años), e incluso puede aparecer a partir del primer celo.
- Es la edematización del tejido vaginal cercano a la abertura uretral provocada por una respuesta exagerada a la estimulación de los estrógenos producidos en el proestro y estro (periodo estrogénico).
- En ocasiones la edematización vaginal, puede presentar el prolapso de este tejido.

Imagen 8. Hiperplasia vaginal.

Patologías reproductivas en machos caninos

Tumores testiculares

El seminoma es una enfermedad neoplásica que se origina en las células germinales o epitelio espermático del túbulo seminífero del testículo el cual es común en el perro donde afecta a perros de 10 años promedio. El diagnóstico se basa en la biopsia e histopatología sin embargo existen pruebas adicionales: biometría hemática, perfil serológico, urianálisis, radiografía y ecografía.

El seminoma canino se ha asociado con el síndrome de feminización que es causado por cambios en las concentraciones hormonales que resulta en la elevación de los niveles de estrógenos.

El seminoma por sí mismo puede secretar estrógeno esto es posible debido a la presencia de una masa grande de tejido capaz de

convertir la testosterona o sus precursores al estradiol o producir cambios relativos en la cantidad de estrógenos o síntesis nueva de los estrógenos pero estos cambios en los niveles hormonales también se han asociado en enfermedades de la próstata como hiperplasia prostática infecciones abscesos metaplasia escamosa formación de quistes prostáticos y alopecia

También niveles elevados de andrógenos pueden causar adenoma de la glándula penal hernia perianal y prepucio péndulo.

En estudios realizados mencionan que los tumores de células de Sertoli y tumores de células de Leydig pueden causar aumento de la producción de estrógenos que

conduce a signos de feminización mientras que los seminomas no son endocrinológicamente activos. Además, se sabe que en caninos el seminoma puede coexistir con otros tipos de tumores testiculares como: el tumor de células de Sertoli o tumor de células de Leydig en el mismo testículo o en el testículo opuesto.^{1,2}



Imagen 9. Testículo con dos tipos tumorales: Seminoma (grande, blanco rosado) y Tumor de células intersticiales (pequeño, marrón, hemorrágico).

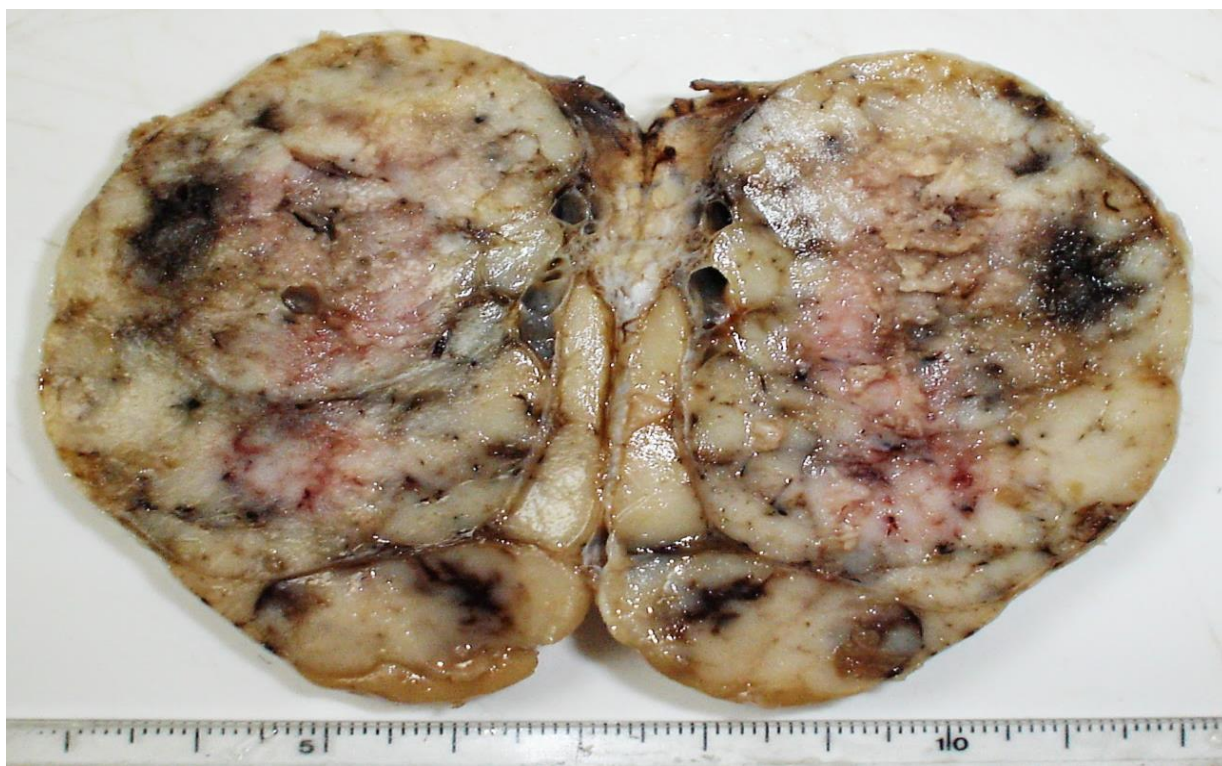


Imagen 10. Tumor de células de Sértoli

Enfermedad prostática.

El tacto rectal (DRE) se considera un componente estándar o basal de la exploración física de los perros de razas medianas y grandes, así como de los perros y gatos pequeños con signos clínicos adecuados. El DRE consiste en que el examinador coloque un dedo índice enguantado en el recto de un perro y palpa en 360° para evaluar si hay anomalías en la función del esfínter rectal, masas del saco rectal y anal, prolapso rectal, hernias perineales, fístulas, problemas prostáticos y del tracto urinario inferior, linfadenopatía sublumbar, anomalías del suelo pélvico, estreñimiento/obstipación y otros trastornos gastrointestinales (GI) mediante el examen del contenido rectal. El DRE también puede implicar la expresión de los sacos anales en las posiciones de las 4 y las 8 en punto. Los hallazgos normales del tacto rectal incluyen una próstata simétrica, lisa, no dolorosa y bilobulada en perros machos y sacos anales fácilmente expresables o vacíos.

Las prostatitis en los caninos pueden ser agudas o crónicas. Las formas agudas pueden cursar con complicaciones generales graves, y comprenden las prostatitis supurativas bacterianas y los abscesos. En cuanto a las formas crónicas muchas veces pueden pasar desapercibidas, llevando a la aparición de cuadros agudos o dejando secuelas graves de infertilidad en perros reproductores.^{1,2}



Figura 2. Ecografía de la próstata de un perro sin enfermedad prostática. Se observa la simetría en los dos lóbulos de la próstata. Foto: Veterinary Medical Center Univ. Minnesota.

Imagen 11. Ecografía de próstata canina.

Guía de las alteraciones estrogénicas en hembras y machos caninos

Niveles elevados de estrógeno en hembras pueden indicar:

Síndrome de hiperestrogenismo

Tumor ovárico

Enfermedad uterina

Niveles elevados de estrógeno en machos pueden indicar:

Síndrome de feminización

Tumor testicular

Enfermedad prostática

Niveles bajos de estrógeno en hembras pueden indicar:

Hipogonadismo

Insuficiencia ovárica

Enfermedad uterina

Niveles bajos de estrógeno en machos pueden indicar:

Hipogonadismo

Insuficiencia testicular

Enfermedad prostática

RESULTADOS

Los resultados de la evaluación de estrógeno en caninos tienen variaciones dependiendo de la edad, el sexo y la raza del perro, así como de cualquier condición médica que tenga el paciente:

- Niveles normales de estrógeno: En perros sanos, los niveles de estrógeno suelen ser bajos en machos y fluctúan en hembras según el ciclo reproductivo.^{3,4}
- Niveles elevados de estrógeno: Pueden indicar una condición médica como el síndrome de estrógeno, que puede causar síntomas como crecimiento excesivo del pelo, agrandamiento de los órganos reproductivos y problemas de comportamiento.³
- Niveles bajos de estrógeno: Pueden indicar una condición médica como la insuficiencia ovárica, que puede causar síntomas como infertilidad y problemas de comportamiento.⁴

DISCUSION

La evaluación de estrógeno en caninos determina el nivel de estrógeno en el cuerpo del perro. El estrógeno es una hormona femenina que tiene un papel importante en el ciclo reproductivo y el desarrollo de los órganos reproductivos.⁸

En el caso de la hiperplasia endometrial quística (HEQ) la bibliografía menciona que tuvo una frecuencia de presentación de 87.1% casos con respecto a la frecuencia de tal presentación de ovarios poliquísticos con solo el 32.26% por lo tanto no hay relación entre estas dos patologías aunque nuevamente la literatura reporta que la etiología de CHEQ es por aumento de hormonas estrogénicas en la etapa de diestro y este desequilibrio hormonal a su vez es responsable del desarrollo ovárico poliquístico, por tanto sería pertinente realizar un estudio con mediciones hormonales de los pacientes que sean diagnosticados con piometra y verificar los hallazgos macroscópicos de los casos.⁸

Con respecto a el diagnóstico precoz de las neoplasias testiculares es importante para evitar a tiempo los signos clínicos asociados a estas entidades, desde el agrandamiento testicular y la infertilidad, hasta signos sistémicos como el síndrome de feminización y mielotoxicosis, e incluso las metástasis.^{2,6}

La ecografía testicular y abdominal es crucial para detectar nódulos o masas testiculares no aparentes, y también determinar la existencia de hiperplasia prostática o invasión de órganos abdominales.

Si bien los tres tipos de tumores (Tumor de células de Sertoli, Tumor de células de Leydig y Seminoma) poseen un aspecto macroscópico distintivo, se requiere la histopatología para confirmar el diagnóstico presuntivo y detectar infiltración de las estructuras adyacentes.^{2,5}

En el ejercicio clínico veterinario se debe prestar especial atención en los pacientes criptórquidos, y debería indicar la castración bilateral de los mismos por dos motivos: el criptorquidismo es una entidad hereditaria, y los testículos no descendidos tienen mayor riesgo de desarrollar tumores.²

Entre los perros que acuden a la atención clínica veterinaria, las anomalías encontradas en el tacto rectal son comunes y cambian el plan de diagnóstico en 1 de cada 4 perros y el plan de tratamiento en 1 de cada 8 perros.

La conclusión de esta revisión en la información es evaluar la frecuencia con la que se aprecian hallazgos anormales en el tracto rectal (DRE) realizado durante un examen físico en perros que acuden a la consulta veterinaria. Además, otro objetivo es determinar qué hallazgos anormales son los más comunes, la frecuencia con la que los hallazgos específicos afectan los planes de diagnóstico y tratamiento, y si lograr hacer la señalización del paciente o el servicio que presenta influyen significativamente en la probabilidad de encontrar una anomalía.

Planteamos la hipótesis de la importancia en evaluación estrogénica en patologías de hembras y machos caninos, la información de las diferentes patologías que se relacionan con la presencia de estrógenos, tendrán influencia en los planes de diagnóstico y tratamiento.

BIBLIOGRAFIA

1.Las anomalías detectadas en los tacto rectal en perros son comunes e influyen en los planes de diagnóstico y tratamiento

[Camille Andrews](#), [Rebecka S Hess](#), [Kenneth Drobatz](#), [Yekaterina Buriko](#)

Journal of the American Veterinary Medical Association

2.Seminoma canino: diagnóstico y tratamiento TESINA Para optar el Título de Médico Veterinario
AUTOR Ricardo Germán Changa Carreño LIMA – PERÚ 2010

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA EAP. DE MEDICINA VETERINARIA

3.Fisiología veterinaria de Cunningham

2014 Elsevier España, S.L.

Travessera de Gracia, 17-22, Barcelona, España

4.Fisiología veterinaria de James G. Cunningham (2020)

Elsevier 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043

5.Prostatitis en el perro

Autores: [Dragonetti, Ana María](#) | [Solis, C.](#) | [Giordano, Andrea](#)

2005

Tipo de documento: [Revision](#)

6. Manifestaciones dermatológicas de procesos sistémicos en perros

Fuster Muñoz, Marta

Verde Arribas, Maite (dir.) ; Laura Navarro Combalía (dir.)

Universidad de Zaragoza, VET, 2020

Departamento de Patología Animal, Área de Medicina y Cirugía Animal

7. Manual de reproducción de animales de producción y compañía

2016/ editorial: Universidad Nacional De La Plata/ Facultad de ciencias veterinarias/ Español

8. Ovarios poliquísticos y su relación con el desarrollo de piometra en hembras caninas diagnosticadas en la clínica de animales de compañía y clínica de pequeños animales

Diana Carolina Ortega Camacho

Tesis, 2014

Facultad de medicina veterinaria y zootecnia

Universidad cooperativa de Colombia.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Medicina Veterinaria y Zootecnia

Medicina de laboratorio basada en la evidencia (MLBE)
aplicada a la práctica veterinaria

Integración Diagnóstica
Prueba curva de tolerancia a la glucosa

Profesores:

MVZ Castañeda Aceves Graciela
MVZ Valdivia Guillermo

Alumna:
Santiago Hernández Monserrat Saraí

Fecha:
Agosto de 2024

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	3
MARCO DE REFERENCIA	4
MATERIAL Y/O MÉTODOS	6
RESULTADOS	6
DISCUSIÓN	7
CONCLUSIÓN	11
BIBLIOGRAFÍA	12

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es la patología más común del páncreas endocrino detectada en la clínica de pequeñas especies. Se caracteriza por la presencia de una hiperglucemia crónica como resultado de una ineficaz producción o acción de la insulina, dando como resultado la aparición de los signos clínicos clásicos de la enfermedad: poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso (Patricio, 2021). Un diagnóstico temprano, además de un tratamiento individualizado y una correcta monitorización son piezas claves para el control de la patología. Para realizar su diagnóstico se usan tres pruebas de laboratorio: hemograma, perfil bioquímico y urianálisis. Al encontrar resultados positivos de hiperglucemia y glucosuria, el paciente será diagnosticado con DM (Álvarez, 2017).

El tratamiento es la aplicación de insulina exógena y se lleva a cabo para restablecer la calidad de vida del perro, minimizando las complicaciones que conllevan esta enfermedad y sobre todo se debe evitar llevar al animal a un estado de hipoglucemia (Vladimir, 2015). El propietario es, en gran parte, responsable del éxito del tratamiento ya que es el encargado de administrar la insulina exógena y así controlar la aparición de signos clínicos. Monitorizar la concentración sanguínea de glucosa es esencial para estabilizar la glucemia, además de determinar la dosis de insulina y las posibles modificaciones de la misma y lo podemos realizar con las curvas de glucosa domiciliarias o intrahospitalarias con ayuda de un glucómetro (Patricio, 2021).

ANTECEDENTES

La glucosa es la fuente de energía del cuerpo y se regula por la acción conjunta de insulina y glucagón. El páncreas tiene funciones endocrinas y no endocrinas importantes. La porción endocrina cumple una importante función como es la secreción de hormonas directamente al torrente sanguíneo. Se organiza en islotes delimitados (denominados islotes de Langerhans) que contienen cuatro tipos de células, cada uno de los cuales produce una hormona diferente. Las más numerosas son las células β , que producen insulina; las células α producen glucagón; las células D producen somatostatina; y las células F o PP sintetizan polipéptido pancreático. Aunque estas hormonas tienen funciones diferentes, todas participan en el control del metabolismo, y más concretamente, en la homeostasis de la glucosa. (Sampognaro, 2012).

La insulina es una proteína que consta de dos cadenas, denominadas A (21 aminoácidos) y B (30 aminoácidos), unidas por dos puentes disulfuro (Bradley, 2020). Hay diferencias menores en la composición de aminoácidos de la molécula entre especies, por ejemplo la insulina de los felinos es muy similar a la bovina, mientras que la insulina canina es similar a la humana e idéntica a la porcina en cuanto a su estructura aminoacídica (Vladimir, 2015).

La síntesis de la insulina es similar a la de otras hormonas peptídicas y comienza con la formación de una preproinsulina polipeptídica lineal en el retículo endoplasmático rugoso. Un pequeño fragmento polipeptídico se escinde para formar la proinsulina. Esta forma una espiral, cuyos extremos se unen mediante puentes disulfuro. La Proinsulina se transfiere al aparato de Golgi, donde más tarde se produce su procesamiento y se almacena en gránulos de secreción que contienen tanto insulina como péptido C o conector (de 33 aminoácidos de longitud). La secreción de la insulina sigue una cinética bifásica en respuesta a los estímulos adecuados. La liberación inicial aguda implica la exocitosis de la insulina preformada desde los gránulos de secreción. Tras la fase aguda, se produce una fase crónica de secreción que incluye la síntesis de proteínas y, por tanto, probablemente la síntesis de insulina. El control de la glucosa sobre la secreción de insulina representa un sistema de retroalimentación positivo, en el cual el aumento de las concentraciones de glucosa da lugar a un incremento en las concentraciones de insulina (Bradley, 2020. Sampognaro, 2012).

El nivel normal de glucosa en la sangre de un canino es de 60 a 100 mg/dl. Las principales funciones metabólicas de la insulina son anabólicas, en las que se promueve la utilización de glucosa como energético y el almacenamiento de esta, ácidos grasos y aminoácidos en la célula (Vladimir, 2015). Esta hormona es fundamental en el movimiento de glucosa a través de la membrana plasmática hacia el interior de la célula, excepto en algunos tejidos como gran parte del cerebro, hígado, glóbulos rojos y blancos de la sangre, los cuales tienen un acceso continuo de glucosa (Bradley, 2020).

La vida media de esta hormona es de 10 minutos aproximadamente y actúa en varios sitios dentro de las vías metabólicas de los carbohidratos, grasas y proteínas; siendo el hígado el órgano blanco más importante, debido a la circulación venosa pancreática que pasa directamente hacia este órgano. El efecto neto de las acciones de la insulina es disminuir las concentraciones sanguíneas de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos y promover la conversión intracelular de estos compuestos en sus formas de almacenamiento, como glucógeno, triglicéridos y proteínas, respectivamente. (Vladimir, 2015, Sampognaro, 2012).

MARCO DE REFERENCIA

Se denomina hiperglucemia a la concentración de glucosa plasmática superior a 130 mg/dl, aunque la sintomatología no se desarrolla hasta que estos niveles sobrepasan el umbral renal de reabsorción de la glucosa (Nelson, 2010).

La curva de tolerancia a la glucosa es una prueba de provocación que permite estudiar la eficacia del cuerpo para metabolizar la glucosa (Reinauer, 2015). Solamente son necesarias para el control de la enfermedad. Se realizan determinando la glucemia cada dos horas, manteniendo el régimen habitual de alimentación y las

inyecciones de insulina. La técnica consiste en realizar un pinchazo en la cara interna del labio y medir los niveles de glucosa en sangre determinado normalmente con un analizador «point-of-care» o con un glucómetro portátil. Cuando se está realizando una curva de glucosa, se deben mantener el protocolo de insulina y de alimentación usados por el dueño; cuando se realiza una curva se debe empezar a primera hora de la mañana ya que la primera medición debe ser previa a la administración de insulina. Luego, se continúan midiendo los valores de glucosa en sangre cada 1-2h a lo largo del día para la determinación de la glucosa. Es más importante mantener la rutina diaria de la mascota, que arriesgarse a que los resultados no sean precisos debido a la inapetencia que muestran en el hospital o a la administración de la insulina en un momento inapropiado (Nelson, 2010). También se puede realizar la prueba de forma doméstica, ya que sometiendo bajo estrés hospitalario puede afectar la medición y causar alteraciones en la curva (Patricio, 2021. Matamoros, 2002).

El tratamiento con insulina se ajusta en base a la interpretación de la curva de glucemia seriada. El objetivo de estas medidas seriadas es obtener una apreciación de las acciones de la insulina en el animal diabético e identificar la razón por la cual el perro diabético no está bien controlado. La interpretación de la curva de glucosa consiste en evaluar la efectividad de la insulina, el nadir (nivel más bajo) de glucosa en sangre y la duración del efecto de la insulina. La efectividad de la insulina se refiere a la capacidad de la insulina para disminuir los niveles de glucosa en sangre (Nelson, 2010).

Es importante mantener las concentraciones de glucosa entre 100 y 250 mg/dl a lo largo del día y la noche, aunque muchos perros diabéticos van bien a pesar de que las concentraciones de glucosa constantemente se encuentran por encima de los 100 y por debajo de los 300 mg/dl. Normalmente es en el momento de la administración de la insulina cuando las concentraciones de glucosa son más altas, pero esto no ocurre siempre así. Si las concentraciones de glucosa nadir son mayores de 150 mg/dl, se necesitaría aumentar la dosis de insulina, y si el nadir es menor de 80 mg/dl, la dosis debe ser reducida. La duración del efecto de la insulina se puede valorar si la glucosa nadir está por encima de 80 mg/dl y no ha habido una disminución rápida de esta después de la administración de insulina. La valoración de la duración del efecto hormonal puede no ser válida cuando el nadir es menor de 80 mg/ml o disminuye rápidamente debido a que puede producir el efecto Somogyi, el cual puede disminuir falsamente la duración aparente del efecto de la insulina. Se puede obtener una aproximación preliminar sobre la duración del efecto de la insulina examinando el momento de la glucosa nadir. Para la mayoría de los perros diabéticos bien controlados, la concentración de glucosa inicial cerca del momento de la administración de insulina, está por debajo de los 300 mg/dl y el nadir de glucosa se produce a las 8-10 horas después de la administración de la insulina. Una concentración de glucosa inicial mayor de 300 mg/dl, combinada con una glucosa nadir antes de las 8 horas de la administración de insulina y el consiguiente aumento de la concentración de glucosa por encima de 250 mg/dl, indican una reducción en la duración del

efecto de la insulina. Los perros pueden desarrollar una hipoglucemia o un efecto Somogyi si la acción de la insulina dura más de 14 horas y si está siendo administrada dos veces al día. (Nelson, 2010).

MATERIAL Y/O MÉTODOS

El método implementado para la realización de este trabajo se basó en llevar a cabo una revisión bibliográfica acerca de la diabetes mellitus canina de los autores Alvarez y Arroyo, sobre el diagnóstico, tratamiento del autor Vladimir y la monitorización del autor Patricio. Haciendo énfasis en la monitorización a la prueba de curva de tolerancia a la glucosa.

RESULTADOS

Para poder tener un buen control sobre la glucosa en sangre, es necesario realizar la monitorización con la curva de tolerancia a la glucosa ya que nos permitirá determinar si la insulina que le estamos administrando al animal es eficaz para tratar la diabetes mellitus. Además identificamos el Nadir de la glucosa (ideal 80-150mg/dL), el pico de insulina, la duración del efecto de la insulina y el grado de fluctuación de las concentraciones de glucosa en sangre. Con estos parámetros, podemos valorar si la dosis de insulina es adecuada o si la tenemos que modificar sin el riesgo de producir hipoglucemias. Un perro bien controlado, deberá tener una glucemia de entre 90 y 250-300 mg/dL, con el Nadir de la glucosa entre 80-150mg/dL (Fig. 1).

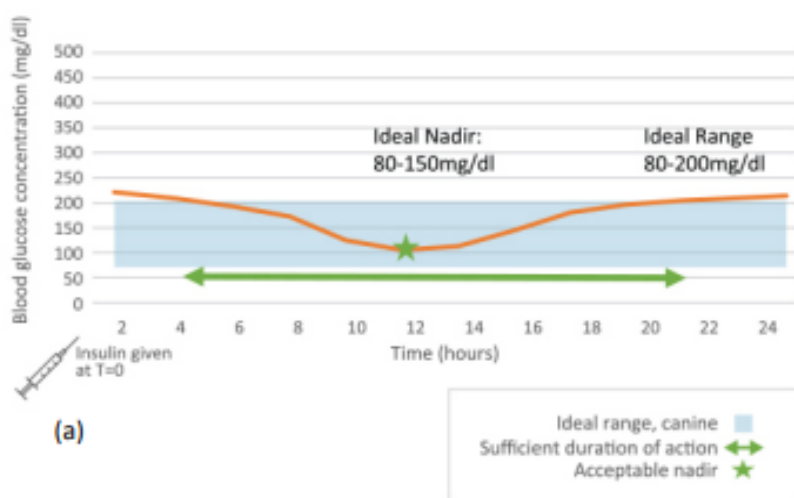


Fig. 1. Curva de glucosa óptima. Podemos observar que el Nadir se encuentra entre 80-150 mg/dL, lo que indica que la duración de acción de la insulina es suficiente para controlar la glucemia (Patricio, 2021).

Debemos conocer bien el comportamiento de esta curva así como saber interpretar los resultados y poder tomar decisiones correctas. (Fig. 2).

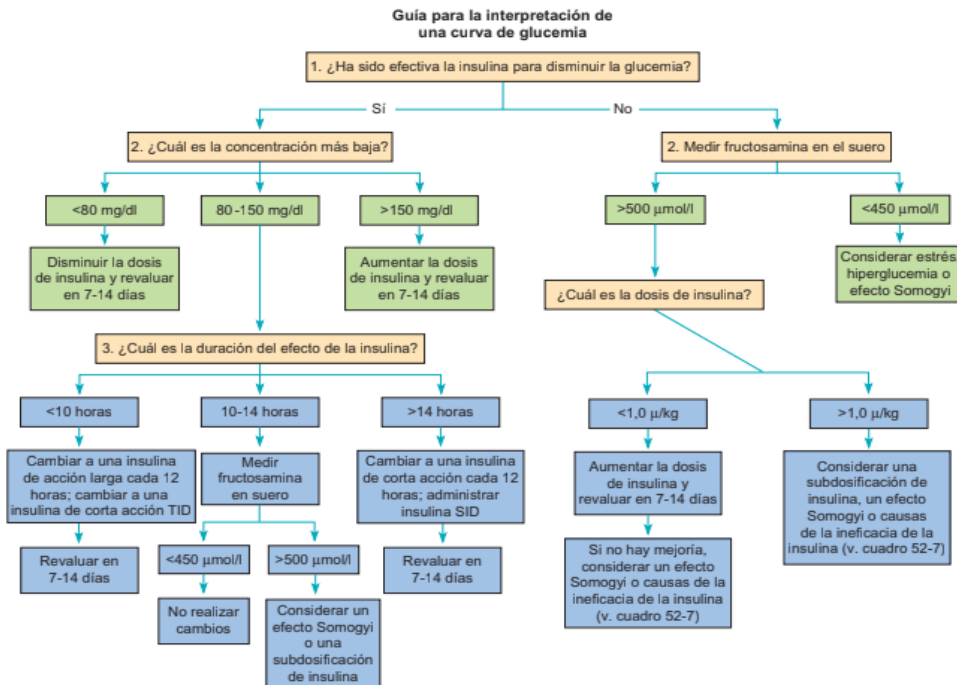


Fig. 2 Algoritmo para la interpretación de la curva de glucosa (Nelson, 2010).

DISCUSIÓN

Normalmente la glucosa es metabolizada por las células para producir energía en forma de adenosín trifosfato (ATP). La glucosa es obtenida a partir de los alimentos que se ingieren en la dieta, para posteriormente ser distribuida a través de la sangre a todas las células que conforman los órganos y tejidos. En los mecanismos de regulación del metabolismo de la glucosa, participan dos hormonas secretadas por el páncreas: la insulina y el glucagón. La principal función de la insulina es disminuir el nivel de glucosa en el plasma sanguíneo, a través de la activación de los receptores transportadores de glucosa, los que incorporan glucosa al citoplasma para ser degradada y obtener energía; este mecanismo es activado en estado postprandial. Por otro lado, la función principal del glucagón es la de estimular la degradación del glucógeno almacenado para obtener glucosa; cuando se presentan bajos niveles en plasma, como sucede en el ayuno prolongado (Álvarez, 2017). La DM se encuentra clasificada dentro de las enfermedades metabólicas, cuya característica principal es la hiperglucemia en plasma, causada por defectos en la secreción o acción de la insulina; por tal modo la hiperglucemia es consecuencia de que el organismo no puede regular la cantidad de glucosa en la sangre,

debido a que el páncreas no produce insulina suficiente o las células de tejidos y órganos blanco; y no responden de manera normal a esta hormona.

Álvarez, 2017 la clasifica en dos;

1. DM tipo I o insulino dependiente: se presenta cuando las células beta del páncreas, son destruidas por el sistema inmune y pierden de manera irreversible su capacidad de secretar insulina; por tal motivo se le ha clasificado como una enfermedad autoinmune.

2. DM tipo II o no insulina dependiente: se presenta cuando el páncreas conserva parcialmente su actividad, pero los receptores de insulina no responden de manera adecuada al estímulo (Álvarez, 2017). Esta falta de insulina o disminución de la sensibilidad en los tejidos provoca que la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos no puedan ser utilizados por los tejidos, acelerando así la glucogenólisis y gluconeogénesis a nivel hepático, a la vez que se presenta acumulación de glucosa a nivel sanguíneo, causando hiperglucemia. A medida que aumenta la concentración sanguínea de glucosa, esta no puede ser reabsorbida del filtrado glomerular por las células tubulares y aparece glucosuria. En perros, esto ocurre con concentraciones de glucosa en sangre >180 a 220 mg/dL. Como resultado de la diuresis osmótica producida por el exceso de glucosa, aparece poliuria, acompañada de pérdida de agua la cual produce una activación del mecanismo de la sed, produciendo polidipsia. Además, el balance energético negativo surge debido a la incapacidad de utilizar la glucosa, la pérdida de calorías por orina secundaria a la glucosuria y el catabolismo tisular, provocando así polifagia con aparición de pérdida de peso. Esto se debe a que hay un balance energético negativo junto a pérdida de masa muscular. Así pues, tenemos descrita la aparición de los signos clínicos clásicos característicos de la patología: poliuria, polidipsia, polifagia, glucosuria y pérdida de peso (Vladimir, 2015). En la especie canina, la forma más diagnosticada de DM se asemeja a la DM Tipo 1 en medicina humana. Está ocasionada por una destrucción rápida y progresiva de las células beta a consecuencia, fundamentalmente, de una acción inmunomediada. Se caracteriza por una hiperinsulinemia permanente, donde no se observa un aumento en la concentración de insulina sérica endógena o del péptido C (proinsulina) después de la administración de un secretagogo (glucosa, glucagón, aminoácidos), por lo que los perros tienen una dependencia absoluta de insulina exógena para controlar la glucemia (Fig. 3) (Álvarez, 2017).

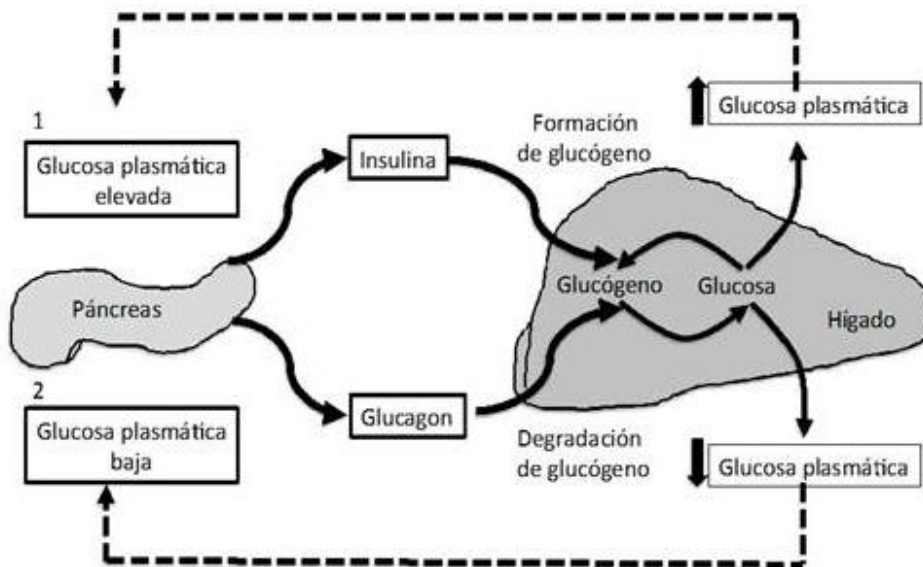


Fig. 3 Mecanismos de regulación del metabolismo de la glucosa a través de la insulina y el glucagón. 1) Altos niveles de glucosa producidos por la alimentación o degradación de glucógeno almacenado; inducen la secreción de insulina por el páncreas, la cual es utilizada para internalizar glucosa en las células o ser nuevamente almacenada como glucógeno. 2) La disminución de los niveles plasmáticos de glucosa inducidos por ayuno prolongado, activan la secreción de glucagón por el páncreas, metabolizando el glucógeno almacenado a moléculas de glucosa para que sea utilizada por el organismo (Álvarez, 2017).

Es de suma importancia conocer los signos clínicos que el animal presenta para poder realizar el diagnóstico acertado de DM, y se deben de efectuar los análisis de laboratorio correspondientes; los cuales deben demostrar la hiperglucemia y glucosuria en ayuno a través de:

1. Hemograma: los resultados usualmente son normales. Puede haber policitemia leve por deshidratación. La elevación del recuento de glóbulos blancos puede deberse a una inflamación.
2. Perfil bioquímico; se observa hiperglucemia e hipercolesterolemia. También anomalías como aumento de las enzimas alanina transferasa y fosfatasa alcalina.
3. Urianálisis: encontramos glucosuria, cetonuria, etc. La presencia y magnitud de glucosuria se debe tener en cuenta cuando se interpreta la densidad urinaria (Álvarez, 2017).

El tratamiento se lleva a cabo para restablecer la calidad de vida del perro, minimizando las complicaciones que conllevan esta enfermedad y sobre todo se debe evitar llevar al animal a un estado de hipoglucemia. Un estadio de hipoglucemia grave, producida por una sobredosis de insulina puede causar daños irreversibles en el cerebro

e incluso la muerte; por lo que uno de los objetivos más importantes del tratamiento de los perros diabéticos es evitar la hipoglucemia inducida por el tratamiento con insulina (Álvarez, 2017). La insulina se encuentra en múltiples formas que difieren en cuanto a su concentración, duración, pureza y costo. Existen tres grupos generales de insulina para perros que son de acción o rápida, intermedia y prolongada (Cuadro 1) (Álvarez, 2017).

Acción	Aspecto	Pico máximo	Duración h	Vía
		5 a 10 min	1 a 2	IV
Rápida	Claro	1 a 3 h	4 a 8	IM
		2 a 4 h	6 a 8	SC
Intermedia	Turbia	4 a 16 h	24	SC
Prolongada	Turbia	8 a 20 h	>24	SC

Cuadro 1. Características generales de las presentaciones farmacéuticas de la insulina.

La insulina de acción rápida se presenta en forma de solución, que puede administrarse por cualquier vía, intravenosa (IV), intramuscular (IM) y subcutánea (SC); suele utilizarse en la regulación de la diabetes complicada, dado que se necesitan ajustes de acción rápida. Su acción se inicia dentro de un rango de una a cuatro horas, y su tiempo de vida media en el organismo es de ocho horas. La actividad de la insulina de acción intermedia oscila en un promedio de nueve horas, y tiene un tiempo de vida media en el organismo de 24 horas; este producto se utiliza más, debido a que se requiere sólo una administración al día. Finalmente la insulina de acción prolongada, ésta produce su actividad durante las 12 horas post administración, y tiene un tiempo de vida media en el organismo largo de entre 24 a 36 horas, siendo administrada por vía subcutánea una dosis diariamente. La insulina utilizada en el tratamiento de la DM en perros se deriva principalmente del porcino. La dosis inicial es de 0,5 a 1,0 UI de insulina/kg de peso corporal. Las moléculas de insulina porcina presentan alta homología a la insulina canina, de tal modo que resulta poco antigénica y teóricamente tiene menos probabilidades de inducir la formación de anticuerpos anti-insulina, tras uso prolongado (Álvarez 2017, Patricio, 2021).

Una monitorización efectiva es esencial para un correcto manejo de la DM. Para la monitorización se realiza la prueba curva de tolerancia a la glucosa. Lo que nos permite analizar si estamos en la dosis adecuada para el control de la enfermedad. Hay diferentes escenarios donde se debe considerar realizar una curva de glucosa:

- Después de la primera dosis de una nueva insulina.
- 7-14 días después de un cambio de dosis.
- Al menos cada 3 meses, incluso en animales con un buen control de la DM.
- Cada vez que reaparecen signos clínicos en un paciente controlado.
- Ante la sospecha de hipoglucemia.

CONCLUSIONES

La diabetes mellitus es causada por la deficiencia en la secreción o acción de la insulina; lo que provoca un estado de hiperglucemia en la sangre, causando un desequilibrio en el funcionamiento del organismo. La prueba curva de tolerancia a la glucosa es una prueba que nos sirve para monitorizar la glucosa en sangre después de la primera dosis de insulina, después del cambio de dosis, en animales que no han tenido buen control o cuando aparece la signología característica de la enfermedad. La técnica utilizada solo consiste en aplicar un pinchazo en la cara interna del labio y se ocupa un glucómetro digital de uso humano o uso veterinario. Con estos parámetros, podemos valorar si la dosis de insulina es adecuada o si la tenemos que modificar sin el riesgo de producir hipoglucemias dentro del control de la enfermedad. Existen dos formas de realizarla, una de manera hospitalaria; esta forma podría interferir en la curva, ya que existen factores que nos dan resultados equivocados, un ejemplo es el estrés en el manejo. Y dos, de manera domiciliaria; en esta el propietario es quien realiza el manejo y dan resultados más certeros. Con un control y un tratamiento adecuado se podrá proporcionar una buena calidad de vida de la mascota.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Álvarez, B. (2017). Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus en perros. Abanico vet vol.7 no.1 Tepic ene./abr. 2017**
- 2. Arroyo, G. (2019). Presencia de diabetes en perros mayores de 7 años con sobrepeso e índice de condición corporal mayor a 4. (Título para Médico Veterinario y Zootecnista). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.**
- 3. Bradley, G. (2020). Cunningham. Fisiología Veterinaria. España. ELSEVIER**
- 4. Matamoros, R. (2002). Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria. Arch. med. vet. v.34 n.2 Valdivia 2002.**
- 5. Nelson, R. (2010). Medicina interna de pequeños animales. Cuarta edición. España. Elsevier.**
- 6. Patricio, L. (2021). Diabetes Mellitus, su control y dispositivos de monitorización subcutánea en veterinaria. (Título para Médico Veterinario y Zootecnista). Universidad Católica de Valencia.**
- 7. Reinauer, H. (2005). Diagnóstico y monitorización de la Diabetes Mellitus desde el laboratorio. OMS**
- 8. Sampognaro, F. (2012). PATOLOGÍAS DEL PÁNCREAS EXOCRINO EN CANINOS Y FELINOS. (Título para doctor en ciencias veterinarias). Universidad de la República Facultad de Veterinaria.**
- 9. Vladimir, N. (2015). DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS EN PERROS DOMÉSTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA PARROQUIA IGNACIO FLORES. (Título para Médico Veterinario y Zootecnista). UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.**