

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



**NIVELES DE ENZIMAS HEPÁTICAS ALANINO AMINOTRANSFERASA,  
ASPARTATO AMINOTRANSFERASA, FOSFATASA ALCALINA, GAMMA  
GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA Y BILIRRUBINA EN CANINOS (*Canis lupus  
familiaris*) MAYORES DE TRES MESES CON DIAGNÓSTICO DE HEPATOPATÍAS  
EN LA CIUDAD DE CAJAMARCA, 2018**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de  
**MÉDICO VETERINARIO**

Presentada por el Bachiller  
**Fernando Mujica Silva**

Asesores  
**Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina**  
**M.Sc. Fernando Oblitas Guayán**

**CAJAMARCA - PERÚ**

**2021**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**  
**NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA**  
Fundada Por Ley N° 14015 Del 13 De Febrero De 1962  
**UNIVERSIDAD LICENCIADA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**DECANATO**

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las dieciséis horas del día veintisiete de mayo del dos mil veintiuno, se reunieron virtualmente los integrantes del Jurado Calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación virtual de Tesis Titulada: **“Niveles de Enzimas Hepáticas Alanino Aminotransferasa, Aspartato Aminotransferasa, Fosfatasa Alcalina, Gamma Glutamil Transpeptidasa y Bilirrubina en Caninos (*Canis lupus familiaris*), mayores de tres meses con diagnóstico de Hepatopatías, en la ciudad de Cajamarca, 2018”**, asesorada por los docentes: Mg. M.V. Fernando Alberto Oblitas Guayán y Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina; y presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: **FERNANDO MUJICA SILVA**.

Acto seguido el Presidente del Jurado procedió a dar por iniciada la sustentación virtual y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

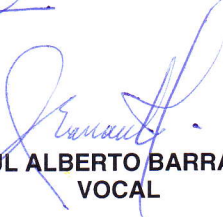
Concluida la exposición virtual de la Tesis, los miembros del Jurado Calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes, relacionadas con el trabajo presentado.

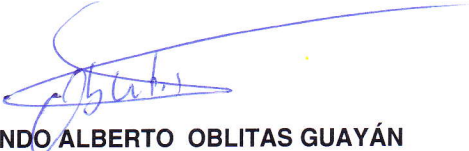
Después de realizar la calificación de acuerdo a las Pautas de Evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el Jurado Calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el Calificativo Final obtenido de: **QUINCE (15)**.

Siendo las diecisiete horas con treinta minutos del mismo día, el Presidente del Jurado Calificador dio por concluido el proceso de sustentación virtual.

  
Dr. JORGE EDUARDO BURGA LEÓN  
PRESIDENTE

  
Dr. MARCELINO ADOLFO IRAZÁBAL LÉCTOR  
SECRETARIO

  
M.Cs. M.V. RAÚL ALBERTO BARRANTES HEREDIA  
VOCAL

  
Mg. M.V. FERNANDO ALBERTO OBLITAS GUAYÁN  
ASESOR

  
Dr. GIUSSEPE MARTÍN REYNA COTRINA  
ASESOR

## **DEDICATORIA**

A mi familia.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi "Alma Mater" por la formación académico profesional.

## RESUMEN

Las enzimas Alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP) gamma glutamil transpeptidasa (GGT) y el nivel de bilirrubina (BIL) en caninos sirven para establecer el grado de daño a nivel del parénquima hepático o diagnosticar alguna patología de tipo obstructiva. En el distrito de Cajamarca, en Perú a 2750 msnm se analizaron 46 caninos (*Canis lupus familiaris*) mayores de 3 meses a los que se les diagnosticó alteraciones hepáticas mediante examen clínico y ultrasonografía, se colectó sangre entera de la vena cefálica en tubos sin anticoagulante, luego se separaron los sueros los cuales fueron analizados usando un espectrofotómetro de luz ultravioleta, utilizando kits comerciales de método cinético. Se siguieron los protocolos respectivos para ALT, AST, GGT, ALP y BIL y se estableció la relación con las variables edad, sexo y condición corporal. Los valores medios encontrados en los pacientes de 2 a 3 años fueron: ALT  $152,78 \pm 62,0$  U/L, AST  $196 \pm 127,52$  U/L, BIL  $0,66 \pm 0,417$  mg/dL y ALP  $119,42 \pm 12,14$  U/L, lo cual comparado con los valores referenciales se encuentra por encima de lo normal, mientras que, la enzima GGT  $5,87 \pm 1,62$  U/L se encuentra dentro de los rangos normales; los valores medios encontrados en los pacientes de 4 a 7 años: ALT  $162,48 \pm 140,21$  U/L, AST  $112,17 \pm 71,89$  U/L, GGT  $6,92 \pm 2,39$  U/L, BIL  $2,37 \pm 4,59$  mg/dL y ALP  $112,77 \pm 77,59$  U/L, etario los valores encontrados se encuentran por encima de lo normal. Los valores medios encontrados en los pacientes de más de 7 años fueron: ALT  $179,72 \pm 149,58$  U/L, AST  $151,65 \pm 189,69$ U/L, GGT  $7,18 \pm 2,11$  U/L, BIL  $0,68 \pm 0,52$  mg/dL, los valores están aumentados, mientras que, la ALP  $91,28 \pm 32,73$  U/L, se encuentra en el rango normal. Los valores plasmáticos de las enzimas ALT, AST, GGT, ALP y BIL aumentados en 46 caninos en la ciudad de Cajamarca indican que estos animales tienen algún daño hepático, hepatocelular o canalicular. Hay relación altamente significativa entre la enzima AST y la edad ( $p \leq 0,01$ ), además, la relación de la BIL y ALP con la variable condición corporal es altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ).

Palabras clave: AST, ALT, ALP, BIL, Caninos, hepatopatías, GGT.

## ABSTRACT

The enzymes Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) gamma glutamyl transpeptidase (GGT) and the level of bilirubin (BIL) in canines serve to establish the degree of damage to the liver parenchyma or diagnose some obstructive type pathology. In the Cajamarca district, in Peru at 2750 meters above sea level, 46 canines (*Canis lupus familiaris*) older than 3 months were analyzed, which were diagnosed with liver disorders by clinical examination and ultrasonography, whole blood was collected from the cephalic vein in tubes without anticoagulant, then the sera were separated which were analyzed using an ultraviolet light spectrophotometer, using commercial kinetic method kits. The respective protocols for ALT, AST, GGT, ALP and BIL were followed and the relationship with the variables age, sex and body condition was established. The mean values found in patients aged 2 to 3 years were: ALT  $152.78 \pm 62.0$  U/L, AST  $196 \pm 127.52$  U/L, BIL  $0.66 \pm 0.417$  mg/dL and ALP  $119.42 \pm 12.14$  U/L, which compared to the reference values is above normal, while the GGT enzyme  $5.87 \pm 1.62$  U / L is within normal ranges; the mean values found in patients aged 4 to 7 years: ALT  $162.48 \pm 140.21$  U / L, AST  $112.17 \pm 71.89$  U / L, GGT  $6.92 \pm 2.39$  U/L, BIL  $2.37 \pm 4.59$  mg / dL and ALP  $112.77 \pm 77.59$  U / L, age the values found are above normal. The mean values found in the patients older than 7 years were: ALT  $179.72 \pm 149.58$  U / L, AST  $151.65 \pm 189.69$  U/L, GGT  $7.18 \pm 2.11$  U/L, BIL  $0.68 \pm 0.52$  mg/dL, the values are increased, while the ALP  $91.28 \pm 32.73$  U/L is in the normal range. The plasma values of the ALT, AST, GGT, ALP and BIL enzymes increased in 46 canines in the city of Cajamarca indicate that these animals have some liver, hepatocellular or canalicular damage. There is a highly significant relationship between the AST enzyme and age ( $p \leq 0.01$ ), in addition, the relationship of BIL and ALP with the body condition variable is highly significant ( $p \leq 0.01$ ).

**Key words:** AST, ALT, ALP, BIL, Canines, disease, GGT, liver.

# ÍNDICE

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

CAPÍTULO I.....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	4
CAPÍTULO II .....	5
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	5
CAPÍTULO III	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	33
<b>3.2.1. Material biológico</b> .....	34
<b>3.2.2. Materiales para la toma de muestra</b> .....	34
<b>3.2.3. Material de laboratorio</b> .....	34
<b>3.2.4. Material químico y fármacos</b> .....	34
<b>3.2.5. Equipos y dispositivos</b> .....	35
<b>3.2.6. Material de Escritorio</b> .....	35
3.3.3.1. Identificación de los pacientes .....	36
3.3.3.2. Examen clínico del paciente .....	36
3.3.3.3. Muestra de investigación .....	37
3.3.3.4. Obtención del suero.....	37
3.3.4.1. Determinación de la enzima ALT .....	37
3.3.4.2. Fundamento: basado en el siguiente esquema reaccionante .....	37
3.3.4.3. Condiciones de reacción .....	37
3.3.4.4. Procedimiento.....	38
3.3.4.2. Determinación de la enzima AST.....	38
3.3.4.4.1. Fundamento: Basado en el siguiente esquema reaccionante .....	38
3.3.4.4.2. Condiciones de reacción.....	38
3.3.4.4.3. Procedimiento.....	38
3.3.4.5. Determinación de la enzima GGT.....	38
3.3.4.5.1. Fundamento.....	39

3.3.4.5.2. Condiciones de reacción.....	39
3.3.4.5.3. Procedimiento.....	39
3.3.4.5.4. Determinación de la enzima ALP .....	39
3.3.4.5.5. Fundamento.....	39
3.3.4.5.6. Condiciones de reacción.....	40
3.3.4.5.7. Procedimiento.....	40
3.3.4.5.8. Determinación de BIL total.....	40
3.3.4.5.9. Fundamento.....	40
3.3.4.5.10. Condiciones de reacción.....	40
3.3.4.5.11. Procedimiento.....	41
CAPÍTULO IV.....	42
<b>RESULTADOS</b> .....	42
CAPÍTULO V.....	45
<b>DISCUSIÓN</b> .....	45
CAPÍTULO VI.....	48
<b>CONCLUSIONES</b> .....	48
CAPÍTULO VII.....	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXO.....	53



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Los métodos auxiliares de diagnóstico son de gran utilidad al momento de diagnosticar patologías, y a través de los años son cada vez más utilizados por Médicos Veterinarios para apoyar sus diagnósticos presuntivos. El hígado es un órgano vital encargado de metabolizar, almacenar, vehiculizar y eliminar diversas sustancias, fisiológica y anatómicamente es diverso, no hay un estudio aislado que identifique en forma adecuada su enfermedad o etiología subyacente. Por tal razón, deben utilizarse una batería de análisis para valorar el sistema hepático aunque no existe una prueba de laboratorio que permita conocer en su totalidad su estado funcional; sin embargo, existen enzimas que son específicas del hígado y que nos informan de lesión hepatocelular, citólisis, obstrucción de conductos hepáticos, etc. (Coppo and Mussart, 2000).

De los estudios selectivos para la enfermedad hepática, el perfil bioquímico sérico ofrece información específica referida a la distribución, actividad o estado del sistema hepático y una estimación del grado del deterioro funcional, añade una mejor dimensión a la evaluación diagnóstica y permite construir una lista razonable de diagnósticos diferenciales y un pronóstico definitivo (Ettinger and Feldman, 2009). Entre las pruebas que informan de lesión hepatocelular o citólisis destacan las transaminasas o aminotransferasas. Estas enzimas son parte del metabolismo intermedio que catalizan la transferencia de grupos amino del ácido aspártico o alanina al ácido acetoglutárico, formando ácido oxalacético y ácido pirúvico (Birchard and Sherding, 2002).

En el hígado se producen múltiples reacciones de transaminación, las transaminasas con valor clínico son tres: la aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT) y la gamma glutamil transpeptidasa (GGT)

(Medway *et al.*, 1980). La gamma glutamil transpeptidasa (GGT) es una enzima que, al igual que la fosfatasa alcalina, indica colestasia, su función es transferir grupos gama-glutamil entre péptidos, por ejemplo, de glutatión a otros péptidos o aminoácidos. Esta enzima está presente en la membrana celular de muchos tejidos, siendo más abundante en hígado, vías biliares y páncreas (Arderiu, 1998).

La elevación sérica de transaminasas está relacionada con el número de hepatocitos afectados, aunque la elevación enzimática puede no relacionarse con la gravedad de la lesión. Hoy en día en medicina veterinaria se utilizan diversas técnicas diagnósticas complementarias. El empleo de análisis de laboratorio por ejemplo, se ha convertido en una herramienta de uso diario (Moreira, 2012).

Los valores de referencia enzimáticos (ALT, AST, ALP y GGT) son establecidos por estudios realizados en los países con diferentes condiciones geográficas, climáticas, métodos, etc. De igual manera, estas enzimas están normalmente presentes en bajas concentraciones en el suero, aunque el rango de normalidad varía según los diferentes laboratorios que elaboran sus propios valores de referencia de acuerdo al equipo de análisis utilizado y su población específica, existiendo factores que pueden modificar los valores séricos como la edad, sexo, tipo de alimentación, estilo de vida (Lorenz *et al.*, 1990).

Por estas razones el presente trabajo tiene por finalidad generar un conocimiento práctico en la valoración de Alanino Aminotransferasa (ALT), Aspartato Aminotransferasa (AST), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) Fosfatasa Alcalina (ALP) y Bilirrubina (BIL) en caninos mayores de tres meses, a su vez, consolidar información teórica acerca de las alteraciones a nivel hepático ya que se aportará conocimientos sobre los niveles de enzimas y su comparación para posteriores estudios relacionados con este tema.

El presente trabajo de investigación se realizó en pacientes con enfermedad hepática debido a que en Cajamarca aún no se han realizado estudios que

evalúen los niveles de transaminasas y los relacionen con las variables, edad, sexo y la condición corporal, por tanto, este estudio contribuye a establecer cuál de las variables descritas es un factor determinante en la aparición de enfermedades que afectan al hígado.

## **OBJETIVOS**

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los niveles séricos de las enzimas alanino aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gamma glutamil transpeptidasa y fosfatasa alcalina; y bilirrubina en caninos (*Canis lupus familiaris*) con diagnóstico de hepatopatías en la Ciudad de Cajamarca.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar los valores enzimáticos, de alanino amino transferasa, aspartato amino transferasa, fosfatasa alcalina, gamma glutamil transpeptidasa y bilirrubina en caninos (*Canis lupus familiaris*) mayores de tres meses con diagnóstico de hepatopatías.
- Relacionar los valores enzimáticos de alanino amino transferasa, aspartato amino transferasa, fosfatasa alcalina, gamma glutamil transpeptidasa y bilirrubina con las variables edad, sexo y condición corporal en caninos (*Canis lupus familiaris*) mayores de tres meses con diagnóstico de hepatopatías.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes

La obesidad es la alteración nutricional que con más frecuencia se presenta en la práctica clínica veterinaria de pequeños animales en los países desarrollados. Su incidencia se ha estimado entre 20 a 40% y se considera que existe obesidad en los perros cuando el peso corporal excede un 10-20% el peso establecido como ideal para la especie, sexo, raza y edad (Moreira, 2012).

En perros, se sabe que la sobrecarga ponderal puede ir asociada a importantes problemas de salud. Las implicaciones clínicas y metabólicas más importantes de la obesidad canina son diversas, tales como alteración de la función inmunitaria, neoplasias, aumento de las afecciones respiratorias, cardiovasculares, hipertensión, enfermedades orales, diabetes, alteraciones endocrinas, alteraciones digestivas, intolerancia al ejercicio, dificultad en los movimientos, hipercolesterolemia e hipertriglicemia, riesgo anestésico y quirúrgico, disminución de la capacidad visual y auditiva, alteraciones cutáneas de origen no alérgicos (Kraft and Dürr, 2000). El grado en que cada una de ellas contribuye a la morbilidad y mortalidad de los perros se desconoce, pero sí es cierto que los animales obesos presentan una morbilidad aumentada y una disminución de la esperanza de vida (Ortiz, 2017).

Según Peña (2015), se han estudiado las repercusiones analíticas y clínicas asociadas a la sobrecarga ponderal, así como evaluado los efectos de un programa de pérdida de peso en perros obesos, tratados con mitratapida y una dieta alta en fibra seca y el impacto sobre la presión arterial y algunos parámetros metabólicos (ALT, ALP, colesterol

total [CLT], triglicéridos y glucosa). Los resultados obtenidos mostraron la existencia de una asociación entre la sobrecarga ponderal y los parámetros lipídicos y enfermedades asociadas como la hipertensión. Por tanto, concluyeron que la presencia de sobrecarga ponderal en el perro conlleva a alteraciones patológicas y está asociada a patrones ambientales que controlados mediante una dieta adecuada podrían disminuir la sobrecarga ponderal y sus repercusiones.

En México, Montoya (2017b), analizó mediante bioquímica los indicadores del funcionamiento hepático y renal en perros clínicamente sanos clasificados por edad y género. El diseño fue no experimental de tipo transversal, se recolectaron un total de 240 muestras sanguíneas divididas en cuatro grupos: (i) de 4 a 8, (ii) 9 a 24, (iii) 25 a 52 y (iv) mayores a 52 semanas de edad. Por medio de espectrofotometría se determinó ALT, AST, GGT, FAS, LDH, proteínas totales, albúmina, colesterol, urea, creatinina, glucosa, bilirrubina total y directa. Se encontraron valores más bajos de proteínas totales, albúmina, colesterol, triglicéridos, ALT, GGT, urea y creatinina en cachorros; mientras que la FAS, LDH y glucosa fueron mayores en cachorros que en adultos ( $p < 0.05$ ). La concentración de proteínas totales del grupo (i) fue menor en comparación con los valores de los adultos (iv) al obtener una media de 46,4 mg/L y 62,2 mg/L respectivamente. Por otro lado, la concentración de albumina en el grupo (i) fue de 25,1 mg/L mientras que en los adultos fue de 31,6 mg/L. A su vez, la concentración de creatinina en el grupo (i) fue de 38.7  $\mu\text{mol/L}$  y en los adultos de 91  $\mu\text{mol/L}$ . Los valores de LDH fueron mayores en los cachorros del grupo (i) al obtener una media de 213,6 U/L mientras que en los adultos se obtuvo una media de 47,2 U/L. Con respecto a la FAS, el grupo (i) obtuvo una media de 208,5 U/L a diferencia de los adultos que presentaron una media de 51,4 U/L.

Se realizó otro estudio donde se analizó los niveles de transaminasas en humanos y caninos durante 25 años y se obtuvo que, en personas adultas clínicamente sanas con edades entre 20 y 50 años, 157 mujeres (29 en gestación o lactancia) y 140 varones (n= 297), ALT 3-14 U/L y AST 4-19 U/L. En niños de edades entre 2 y 10 años, aproximadamente la mitad de cada sexo (n=48) los promedios fueron, de ALT 8-12 U/L y hasta 6-14 U/L. En ancianos clínicamente sanos con edades entre 65 y 97 años, 382 varones y 420 mujeres (n=802) los promedios fueron, de ALT 6-18 U/L y AST 8-22 U/L. En caninos mayores de dos años clínicamente sanos, de distintas razas (excepto dálmata) y con sistemas de alimentación (corrientes), de meses a 10 años, 220 hembras y 160 machos (n= 380), se encontró valores promedio de 6-13 U/L y AST 8-15 U/L. En Perros ancianos clínicamente sanos, razas grandes (excepto dálmata), la mayoría ovejero alemán, con edades de 10 a 15 años, 21 hembras y 25 machos los promedios fueron, de ALT 8-20 U/L y AST 10-19 U/L (Coppo and Mussart, 2000).

En la ciudad de Chiclayo (Perú), se analizaron los niveles enzimáticos de las ALT y AST en 80 caninos mayores de dos años clínicamente sanos para relacionar los valores con las variables edad y sexo, obteniéndose así valores promedios para ALT 45,227 U/L y para la AST 37,945 U/L. Se concluyó que el factor sexo influye sobre la valoración de la enzima ALT, donde los machos obtuvieron 50,16 U/L en promedio versus las hembras 40,29 U/L ( $\alpha=0,05$ ). La edad no influyó en la valoración de las enzimas séricas ALT y AST (Ortiz, 2017).

Un estudio en Venezuela fue establecer intervalos bioquímicos de referencia para caninos de la Parroquia San José, Distrito Valencia, Estado Carabobo. Se tomaron muestras séricas de 937 perros clínicamente sanos (449 machos y 488 hembras) pertenecientes a 48 razas diferentes, entre septiembre de 2006 y diciembre de 2008, a los cuales se les practicó pruebas bioquímicas de laboratorio. Los

resultados obtenidos fueron: Glicemia:  $79,3 \pm 16,5$  mg/dL; Urea:  $31,8 \pm 14,0$  mg/dL; Nitrógeno ureico:  $15,3 \pm 6,7$  mg/dL; Creatinina:  $0,94 \pm 0,33$  mg/dL; Proteínas totales:  $6,1 \pm 0,73$  g/dL; Albúmina:  $2,9 \pm 0,83$  g/dL; Globulinas:  $3,2 \pm 1,1$  g/dL; BIL total:  $0,46 \pm 0,17$  mg/dL; BIL directa:  $0,15 \pm 0,07$  mg/dL; BIL indirecta:  $0,31 \pm 0,15$  mg/dL; AST:  $51,1 \pm 16,0$  U/L; ALT:  $47,6 \pm 17,0$  U/L; ALP:  $53,3 \pm 40,8$  U/L. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas de las variables bioquímicas estudiadas en función de la raza y el sexo ( $P < 0,05$ ), mientras que los caninos menores de un año presentaron valores superiores de ALP e inferiores de Proteínas totales y Globulinas ( $P < 0,05$ ). Los intervalos bioquímicos fueron establecidos usando los P<sub>2,5</sub> y P<sub>97,5</sub> (Redvet,2010).

En Costa Rica un estudio de evaluación de todos los pacientes caninos ingresados con sintomatología de enfermedad hepática. En total se atendió 36 pacientes con anomalías hepáticas. En este trabajo la alteración de la BIL total se presentó en el 100% de los casos, solamente 2 de estos casos (40%) manifestó ictericia lo que quiere que resulta importante realizar dicha prueba (Loría Cervantes, 2009).

En Reino Unido un equipo de veterinarios de Animal Health Trust ha llevado a cabo un estudio en el cual han analizado sérico total como factor de pronóstico en casos de hepatitis crónica canina idiopática. Se incluyeron en el estudio 39 perros con hepatitis crónica canina idiopática confirmada mediante diagnóstico histológico, recibidos en dos centros de referencia del Reino Unido entre 1999 y 2010. La BIL sérica total se analizó antes de llevar a cabo las biopsias de hígado para el diagnóstico histopatológico. La cantidad de BIL sérica total estuvo inversamente relacionada de manera estadísticamente relacionada con el tiempo de supervivencia (Coeficiente de Probabilidad =1,082;  $p=0,047$ ). También estuvieron relacionadas de forma directa con la supervivencia el peso (Coeficiente de Probabilidad =1,028;  $p=0,028$ ) y la presencia de ascitis (Coeficiente de Probabilidad =6,758;  $p=0,013$ ). De esta forma el estudio



demuestra que la BIL sérica total puede utilizarse como factor pronóstico adicional en casos de hepatitis canina crónica idiopática: a mayor cantidad, menor esperanza de vida de los pacientes (Gomez Selgas A, 2014).

## **2.2. Base teórica**

### **2.2.1. Enzimas**

#### **2.2.1.1. Concepto y propiedades de las enzimas**

Las enzimas son partículas de naturaleza proteica que catalizan las reacciones bioquímicas siempre que sean termodinámicamente posibles (Kahn, 2007). Son susceptibles a las mismas condiciones que desnaturalizan las proteínas: calor, ácidos fuertes, bases fuertes, metales pesados y detergentes. Y dan positivo a todas las pruebas calorimétricas para proteínas tales como la reacciones de Biuret (enlaces peptídicos) (Voet and Voet, 2006).

Las enzimas tienen alta eficacia catalítica, velocidad de reacción alta, condiciones de reacción moderada, especificidad de reacción y capacidad de regulación, además de que son indispensables en el diagnóstico clínico porque la alteración de la actividad enzimática puede estar asociada a un estado patológico (Arderiu, 1998).

#### **2.2.1.2. Clasificación de las enzimas**

La unión internacional de bioquímica (IUB) en 1964 adoptó un sistema que se basa en la reacción química catalizada, que es la propiedad específica que caracteriza a cada enzima las cuales se agrupan en clases porque catalizan procesos semejantes; y en subclases porque especifican con mayor exactitud. El nombre que recibe la enzima se da por cada reacción particular de acuerdo al sustrato o los sustratos que participan en la reacción seguidos por el tipo de reacción catalizada y la

terminación esa. Las enzimas fueron clasificadas en seis grupos principales correspondientes por sus términos a las reacciones que cada enzima ejerce sobre el sustrato (1. Oxidoreductasas, 2. Transferasas, 3. Hidrolasas, 4. Isomerasas, 5. Liasas y 6. Ligasas) estos grupos se subdividen en otros según el tipo de sustrato y los átomos concretos que son sensibles a sus acciones (Voet and Voet, 2006).

Cuadro 1. Acción de las enzimas

GRUPO	ACCIÓN	EJEMPLOS
1. Oxidoreductasas	Catalizan reacciones de óxido reducción tras la acción catalítica quedan modificados en su grado de oxidación por lo que debe ser transformado antes de volver a actuar	Deshidrogenasas, Aminokidasa, Deaminasas, Catalasas.
2. Transferasas	Transfieren grupos activos a otras sustancias receptoras suelen a actuar en procesos de interconversiones de azúcares de aminoácidos, etc.	Transaldolasas, transcetolasas, transaminasas
3. Hidrolasas	Verifican reacciones de hidrólisis con la consiguiente obtención de monómeros a partir de polímeros, suelen ser de tipo digestivo, por lo que normalmente actúan en primer	Glucosidasas, lipasas, peptidasas, esterasas, fosfatasas.
4. Isomerasas	Actúan sobre determinadas moléculas obteniendo de ellas sus isómeros de función o de posición suelen actuar en procesos de interconversión.	Isomerasas de Azúcar. Epimerasas, mutasas
5. Liasas	Realizan la degradación o síntesis de los enlaces fuertes sin ir acoplados a sustancia de alto valor energético.	Aldolasas, Decarboxilasas
6. Ligasas	Realizan la degradación de síntesis de los enlaces fuertes mediante el acoplamiento a sustancias ricas en energía como los nucleósidos del ATP	Carboxilasas, Peptosintetasas.

Clasificación de las enzimas de acuerdo a Teijón (2006).

### **2.2.1.3. Partes del sistema enzimático**

Los sistemas enzimáticos están formados por la enzima propiamente dicha (apoenzimas) y el sustrato o los sustratos (coenzimas) y sustancias activadoras. La estructura formada por la apoenzima y la coenzima se denomina holoenzima con cierta frecuencia se reconocen sistemas enzimáticos que no tienen grupo prostético o activadores reconocidos (Arderiu, 1998).

### **2.2.1.4. Activadores**

Las enzimas son catalizadores estéreos específicos y orgánicos que disminuyen la denominada energía de activación y por tanto facilitan el que se inicie una reacción. Este proceso implica el trabajo necesario para poner a dos moléculas en un contacto lo suficientemente estrecho como para que reaccionen, además el trabajo debe realizarse sobre la unión química para que pueda romperse y formar otros compuestos y, casi todos los sustratos forman por lo menos tres enlaces con las enzimas, esta adherencia en tres puntos puede conferir asimetría a una molécula. Las enzimas como muchos catalizadores son partículas de gran superficie y muestran que tienen capacidad para atraer y captar diversas moléculas. Cualquier molécula que permita atraer al sustrato a su centro activo se puede considerar como un activador, además, algo que permita la rápida salida de los productos también puede considerarse como un activador (Arderiu, 1998).

Así, se reconocen distintas posibilidades: activación iónica (K, Mn, Mg, Ca, Fe, Cu, etc.), activación de la apoenzima e integridad de los grupos funcionales del centro activo (Voet and Voet, 2006).

### **2.2.1.5. Especificidad enzimática**

Los distintos grupos de enzimas muestran variaciones considerables en su grado de especificidad. Algunas de ellas muestran requerimientos estrictos, tanto para el sustrato como para el tipo de unión química sobre el que van a actuar, pequeños cambios en cualquiera de ellos bastan para iniciar la reacción como ocurre en la mayoría de las enzimas (Voet and Voet, 2006).

El requisito de estereo especificidad para los sustratos es muy importante, las enzimas que habitualmente atacan a los azúcares naturales con configuración D no lo hacen sobre sus isómeros artificiales L. Cuando el sustrato es simétrico y el producto es asimétrico, la enzima provoca específicamente la formación de uno solo de los productos asimétricos, aquel para que la enzima es activa como en el caso de la deshidrogenasa láctica que, al actuar sobre el ácido pirúvico (simétrico), produce exclusivamente ácido D-láctico y no ácido L- láctico (Devlin, 1999).

### **2.2.2. Uso de las enzimas en el diagnóstico clínico**

Las células de distintos órganos corporales contienen una serie de enzimas que les permiten realizar funciones específicas, algunas de ellas están ampliamente distribuidas, otras sólo se hallan en elevadas concentraciones en células de órganos limitadas. Una pequeña cantidad de todas estas enzimas están presente en el plasma tras su liberación de las células, ya sea porque la enzima es excretada o por que las células están siendo repuestas (Birchard and Sherding, 2002).

Cuando el nivel plasmático de una enzima es significativamente superior al normal hay un desorden en el órgano u órganos que lo contienen en el cual se confina normalmente. Esto puede implicar la destrucción (necrosis) de un número sustancial de células; lo que supone la liberación de la enzima, o un daño subletal que incrementa la

permeabilidad de la membrana celular permitiendo que salgan las enzimas. A veces las células pueden ser inducidas a sintetizar más enzimas de lo normal, a menudo, aunque no siempre sucede por efecto de un fármaco (inducción enzimática) (Bush, 1999). Un incremento en la cantidad de una enzima es el cambio más habitual, pero a veces una deficiencia de células en un órgano provoca una disminución del nivel enzimático en el plasma (Voet and Voet, 2006).

El análisis clínico abarca las determinaciones de la enzima en sangre y las variables que afectan el análisis son el pre analítico que pueden ser biológicas (pacientes), las cuales son inherentes no controlables, pero se deben de tener en cuenta, controlables y patológicas; las que no son biológicas están relacionadas con la toma de la muestra y la manipulación de la muestra (Ludeña, 2009). Las variables analíticas pueden presentarse por interferencias en el análisis como por ejemplo lipemia, hemolisis, ictericia, hiperproteinemia, fármacos (iatrogenia) y el uso de anticoagulantes. También puede darse variabilidad meteorológica cuando hay medidas erróneas y falta de control de calidad externo e interno (Ludeña, 2009).

#### **2.2.2.1. Unidades de medida**

La determinación de la actividad enzimática es la velocidad a la cual las enzimas catalizan las reacciones, generalmente se miden en unidades por mililitro (U/mL). Los niveles enzimáticos difieren de otras sustancias, en que no se miden en términos de concentración molar o concentración de masa, sino cantidad de acción enzimática en un volumen dado (1 litro) de plasma o (suero) (Ludeña, 2009).

En esencia lo que se mide es la proporción de una sustancia (sustrato) que es convertida en otra por medio de la enzima. La actividad se expresa en unidades internacionales (de actividad enzimática) por litro, es decir, U/L. Sin embargo, la definición de unidad internacional es algo holgada; es la cantidad de enzima que transforma un micromol de

sustrato en un minuto. Si se cambia el sustrato usado en el metro, la temperatura de incubación o el tampón, también cambia el resultado numérico. Así, lo que parece un modelo de hierro (U/L) resulta que varía dependiendo de cómo se realiza la estimación. Para algunas enzimas, por ejemplo la fosfatasa alcalina existen muchos métodos y los resultados obtenidos con ellos varían considerablemente (con un factor de 5 o más) (Doxey, 1987).

#### **2.2.2.2. Interferencia**

En todas las estimaciones espectrofotométricas la presentación de una fuerte coloración (por ejemplo, hemólisis o ictericia) o de turbidez (lipemia) en la muestra es indeseable ya que puede reducir la transmisión de luz y producir valores erróneamente elevados. Algunas enzimas están presentes en concentraciones elevadas, por ejemplo, la AST, y el lactato deshidrogenasa (LDH) y su liberación causa valores erróneamente altos, por otro lado, la actividad de la lipasa está severamente inhibida por la presencia de hemoglobina. Un buen laboratorio informará al clínico sobre la presencia de hemólisis o de otras características que se deben tener en cuenta para interpretar los resultados (Teijón, 2006).

#### **2.2.2.3. Especificidad**

Algunas enzimas son esencialmente órgano-específicas, es decir, están presentes en concentraciones elevadas sólo en un órgano, ejemplo la ALT y la ornitina carbamiltransferasa (OCT) en el hígado y la lipasa en el páncreas, así, cuando hay una actividad elevada en el plasma no hay duda de dónde procede la enzima. Pero algunas enzimas están presentes en varios órganos, entonces su procedencia es incierta. Tres factores pueden ser útiles para decidir su lugar de origen.

- La presencia de signos clínicos y de otros hallazgos de laboratorio sugieren la implicación de un órgano en particular.

- Estimar la actividad de otras enzimas, los órganos en los que hay distintas enzimas y las concentraciones de enzimas en esos órganos, varían considerablemente. Así pues, si se examinan una combinación de enzimas es más probable que el órgano en cuestión sea correctamente identificado.
- Determinar la actividad de una isoenzima en particular, algunas enzimas tienen formas moleculares ligeramente diferentes, aunque todas tienen exactamente los mismos efectos enzimáticos que reciben el nombre de isoenzimas. En algunos casos todas las variantes de la enzima están presentes en cada uno de los órganos (por ejemplo, AST). Pero en el caso de otras enzimas, cada isoenzima aparece en un lugar diferente, o las isoenzimas que pueden estar en diferentes combinaciones, en distintos lugares; por consiguiente determinar la actividad de cada isoenzima en formas separadas puede establecer el origen de la enzima (Devlin, 1999).

#### **2.2.2.4. Enzimas utilizadas en el diagnóstico hepático**

Las enzimas hepáticas séricas se agrupan en aquellos que indican lesión o reparación y los que reflejan un incremento de la producción enzimática estimulado por bilis retenida o inducción farmacológica. La magnitud y duración de la hiperactividad enzimática plasmática depende de su actividad tisular innata, su localización celular, su rapidez de eliminación desde el plasma y el tipo, intensidad y duración de la lesión/estimulo (Meyer and Harvey, 2000).

La actividad enzimática en suero o plasma es de utilidad para el diagnóstico y diferenciación de alteraciones que se presentan en los distintos órganos como hígado, riñón, corazón, etc. Cada órgano posee un típico patrón enzimático (Figueroa, 1984).

Las enzimas hepáticas utilizadas en el diagnóstico clínico están presentes en elevadas concentraciones en el hígado. En enfermedades hepáticas o en colestasis estas enzimas son liberadas al plasma

aumentando en consecuencia su actividad plasmática; pudiendo incrementarse por daño de la membrana celular o por un aumento de su síntesis. La duración de un incremento plasmático de una enzima depende de su tasa de desaparición y de su tasa de inactivación (Mussman and Valencia, 1978). Las enzimas se encuentran en todos los tejidos del organismo, de ellas varias circulan en la sangre (suero o plasma) y no actúan en este medio, sino que representan el acumulo desde el tejido de origen. Para su determinación hay diversas técnicas con valores normales que varían según la técnica utilizada (Doxey, 1987).

Las enzimas que son utilizadas en el diagnóstico clínico se detallan a continuación:

- Alanino aminotransferasa (ALT)
- Aspartato aminotransferasa (AST)
- Fosfatasa alcalina (AP; ALP; SAP)
- Gamma glutamil transpeptidasa (GGT)
- Amilasas
- Lipasa

### **2.2.3. Transaminasas**

La función de las transaminasas es catalizar la transferencia de un grupo aminado desde un aminoácido a un cetoácido. Las dos transaminasas clínicamente importantes son la glutámica pirúvica y la glutámica oxalacética. Estas dos enzimas tienen amplia distribución en los tejidos de los animales, presentes en poca cantidad en suero sanguíneo, por destrucciones tisulares normales y sucesiva liberación enzimática (Doxey, 1987).

La transaminación efectúa el intercambio del grupo alfa-amino de un aminoácido por el grupo cetona de un alfa-cetoácido, lo que resulta en la formación de un segundo alfa-aminoácido y un nuevo alfa-cetoácido.



Estas reacciones tienen lugar en presencia de la transaminasa glutámica oxalacética (TGO) y la transaminasa glutámica pirúvica (TGP) (Medway *et al.*, 1980). En el hígado más de 60 reacciones producen transaminasas, pero, las únicas con valor clínico son la ALT y la AST. La ALT se encuentra en mayor nivel en el hígado lo cual conlleva a que los médicos tengan mayor consideración, ya que las enfermedades hepáticas presentan en general un aumento de la ALT pudiendo estar acompañada de aumentos también en la AST y en la mayoría de las enfermedades del hígado la ALT es siempre superior a la AST, excepto en la hepatitis alcohólica (Latimer *et al.*, 2005).

Las concentraciones menores de AST en los hepatocitos pueden volver a la normalidad antes que las de ALT durante la resolución de la enfermedad, en una enfermedad aguda suele ser indicativo de un buen pronóstico y en enfermedad crónica, un descenso en los niveles de ALT puede deberse a la recuperación como a una disminución grave de la población de los hepatocitos (Kahn, 2007).

Los valores de referencia para las transaminasas varían entre los laboratorios, dependiendo de la metodología del ensayo, comparando la magnitud del incremento respecto al valor del límite superior del rango de referencia, etc. Se toma como referencia para la ALT: 15-60 U/L y para la AST: 7-50 U/L (Ettinger and Feldman, 2009).

### **2.2.3.1. Alanina aminotransferasa (ALT)**

También llamada GPT (Transaminasa glutámico pirúvica), su función es catalizar la transferencia del grupo  $\alpha$ -amino de la alanina al ácido  $\alpha$ -cetoglutárico formando ácido pirúvico y glutámico. Se localiza en el citoplasma, la vida media es de 2-5 días en caninos, es un indicador específico de patologías hepáticas en pequeños animales (perros y gatos) y grandes animales (cerdos y caballos). Se encuentra en hígado, músculo (cardíaco y esquelético), riñones y eritrocitos. Las causas del incremento de ALT pueden ser por el uso de fármacos (paracetamol,

codeína, anticonceptivos orales), patologías principalmente hepáticas, también musculares y hemólisis (Kahn, 2007).

La elevación de los niveles de ALT indica un daño hepatocelular y el grado de elevación refleja el número de hepatocitos dañados o grado del daño, pero no refleja la función hepática o la reversibilidad de la injuria a nivel celular. El funcionamiento hepático puede permanecer casi normal a pesar de un gran aumento de los valores de la enzima en el suero (Lorenz *et al.*, 1990).

Una elevación del nivel no se considera significativa hasta que alcanzan 2 a 3 veces lo normal. Niveles sobre 300–400 U/L sugieren necrosis hepatocelular moderada y puede presentarse en forma secundaria a disfunción de otros órganos. En el perro, la vida media de ALT es de 2 a 5 horas, por lo tanto, los niveles séricos podrían disminuir rápidamente una vez que la injuria tóxica es eliminada. Sin embargo, el máximo de actividad sérica ocurre 1 o 2 días después de ser afectado por el tóxico y los niveles enzimáticos pueden permanecer elevados por 2 a 3 semanas. Una elevación persistente de ALT por más de 3 semanas indica una necrosis activa persistente (Ettinger and Feldman, 2009).

Los niveles de ALT son más altos durante la necrosis hepática, enfermedades inflamatorias del hígado, carcinoma hepático y trauma, sin embargo los niveles séricos pueden permanecer normales en casos de metástasis de neoplasia en el hígado, cirrosis y shunts portosistémico (Lawrence and Steiner, 2017). El aumento de ALT indica lesión o necrosis celular hepática, reciente o en curso, por lo que un incremento de tres veces los valores normales sugiere daño significativo del hígado en caninos (Sodikoff, 1996). Las pruebas de laboratorio pueden proporcionar información sobre tres aspectos de las enfermedades hepáticas: si han sido dañadas las células hepáticas (daño hepatocelular), si existe obstrucción del flujo biliar (colestasis) y si la función hepática está alterada. Obviamente estos tres procesos están

interrelacionados, pero una lesión no tiene necesariamente como resultado una pérdida de función (Bush, 1999).

La disminución a partir de un nivel de actividad elevada previa, puede ser debida a una depleción de la enzima o a una reducción del número de células más que a una recuperación. La actividad de la ALT no se correlaciona con la función hepática, sino que indica el número de células afectadas por el daño hepático ya sea grave e irreversible o leve y reversible en cualquier momento. La actividad de la ALT está especialmente incrementada en la hepatitis infecciosa canina y en la leptospirosis. Cuando hay necrosis la actividad puede incrementarse hasta treinta veces el límite superior normal (Runnells *et al.*, 1973). A pesar de la recuperación puede que los valores no vuelvan a la normalidad durante dos o tres semanas (Bush, 1999).

La hepatitis producida por los fármacos, compuestos químicos y toxinas biológicas pueden ser paracetamol, glucocorticoides, fenitoína, fenobarbital, primidona y mebendazol, también las aflatoxinas bacterianas liberadas en una piometra. Los fármacos y los productos bioquímicos pueden elevar la actividad de la ALT por dos mecanismos biológicos: toxicidad e inducción enzimática y puede ser difícil establecer una clara división entre ellos. En general, la toxicidad causa un menor incremento de la ALT que la necrosis hepática aguda debido a una infección y si la causa no persiste, los valores vuelven a la normalidad más pronto (Arderiu, 1998).

La hepatitis activa crónica provoca un aumento de ALT y es causada por desórdenes autoinmunes, problemas de almacenamiento de cobre y causas idiopáticas. Se caracteriza por una actividad de ALT persistentemente elevada, del orden de doce veces del límite superior normal (Vasudevan and Sreekumari, 2012). Puede verse aumentada en trauma hepático grave y shock (accidentes de tránsito o en hernias diafragmáticas). En shock, la hipoxia resultante puede afectar a muchas

células incrementando marcadamente la actividad de la ALT como ocurre en cualquier otro daño hepatocelular difuso (Fossum, 2008). También se eleva en pancreatitis ya que las toxinas procedentes del páncreas son llevadas al hígado a través de la vena porta (Pérez, 2014), en neoplasia primaria como por ejemplo carcinoma, hepatoma (e hiperplasia nodular) y la actividad de la ALT puede ser diez veces superior al límite superior normal (o más), y esta elevación permanece bastante constante, mientras que en neoplasias metastásicas el incremento de la actividad de la ALT es poco frecuente. En amiloidosis hepática provoca destrucción masiva de las células con aumento moderado de la actividad de la ALT (Fossum, 2008).

La ALT se incrementa levemente en un proceso hepático secundario (de dos a tres veces el límite superior normal), aumenta moderadamente en hepatopatías por esteroides (hepatomegalia y ocasionalmente necrosis) en casos de hiperadrenocorticismos (síndrome de Cushing) y de administración de glucocorticoides. En shunt portosistémico existe un aumento leve de la actividad de la ALT (Coppo and Mussart, 2000).

La ALT puede aparecer de forma inconstante en casos de hipotiroidismo, acromegalia y diabetes mellitus en perros y gatos (especialmente diabetes mellitus por cetoácidos en los que la hipoxia y la pancreatitis pueden ser en parte los responsables). La hipoxia se presenta en el 75% en los casos de hipotiroidismo en gatos (y un tercio de los casos en tumores tiroideos en perros) e isquemia en caso de hipertiroidismo primario. También aumenta la ALT en casos de hiperinsulinismo, feocromocitomas y síndromes de Zollinger Ellison (Lorenz *et al.*, 1990).

Otras causas no inflamatorias además de neoplasias y procesos hepáticos secundarios a endocrinopatías rara vez producen variaciones en la actividad de la ALT, por ejemplo, cirrosis y congestión pasiva crónica. La obstrucción biliar solo provoca aumento de la actividad de la ALT cuando está asociada a una inflamación hepática. La miocarditis

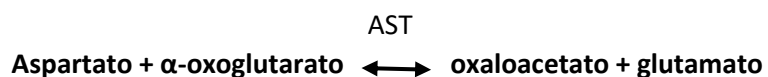
causa un aumento ligero o moderado de la ALT (aunque el músculo cardiaco solo tiene el 25% de la concentración de la ALT del hígado). La fiebre provoca una ligera elevación de ALT (Fossum, 2008). Los parámetros analíticos más usuales para perros, relacionado con la función hepática según Meyer y Harvey (2000) son 28-78 U/L y según Noro y Wittwer (2004) a 37 °C es menor a 85 y AST menor a 90 U/L.

### 2.2.3.2. Aspartato aminotransferasa

AST, también conocida como transaminasa glutámica oxalacética (GOT), su función es catalizar la transferencia del grupo  $\alpha$ -amino del ácido aspártico al ácido  $\alpha$ -zetoglutámico, formando ácido oxalacético y glutámico. Se localiza en el citoplasma y mitocondria y su vida media es de 5 a 12 horas. Es específico de tejido músculo esquelético, hígado, músculo cardiaco, eritrocitos, células epiteliales renales y tejido cerebral. Puede verse aumentada por el uso de fármacos (aspirina, medicamentos antihipertensivos) y en patologías hepática, cardiomiopatías (infarto agudo de miocardio) y hemólisis (Bush, 1999).

La AST hepática parece liberarse más tarde por consecuencia de una lesión más intensa que la ALT. Quizá esto explique el hallazgo en un estudio de que el incremento de la actividad AST sérica tuvo elevada sensibilidad (pero baja especificidad) para la enfermedad hepática en caninos. Los estudios experimentales y las observaciones clínicas sugirieron que la magnitud del incremento es mayor para la actividad ALT sérica que para la AST. El incremento de la actividad ALT sérica precede al de la AST (Willard and Tvedten, 2004). El mayor inconveniente es su falta de especificidad y por ello cuando sea posible, se debe realizar otras determinaciones enzimáticas o pruebas para confirmar el diagnóstico presuntivo (Meyer and Harvey, 2000).

La AST cataliza la siguiente reacción:



En esta reacción, la AST cataliza la transferencia de un grupo amino al átomo de carbono de un oxácido (oxoglutarato) (Nelson *et al.*, 2006, Murray, 2010).

#### **2.2.3.2.1. Determinación de los niveles de AST**

La determinación de AST se realiza mediante espectrofotometría (Cétola, 2000b, Willard and Tvedten, 2004). Los valores normales de AST en caninos en suero comprenden de 10 – 62 UI/L (Willard and Tvedten, 2004), otro parámetro según otro autor es AST (GOT) 19-70 U/L (Meyer and Harvey, 2000).

#### **2.2.3.3. Fosfatasa alcalina (AP, ALP, SAP).**

La ALP (ortofosfórico monoéster, fosfohidrolasa) es una enzima ampliamente distribuida que hidroliza el enlace éster fosfórico entre un grupo fosfato y un radical orgánico. Requiere pH alcalino (óptimo entre 9 y 10) y cofactores (iones zinc y magnesio). Se localiza en la membrana celular y es indicador de colestasis (perro), indicador específico de enfermedad hepática, no específico para animales grandes (Ceron, 2013).

Está presente en riñón, hígado, intestino y hueso. La medida de niveles anormales de fosfatasa alcalina en el suero indica la existencia de enfermedades óseas degenerativas (raquitismo, osteomalacia, hipertiroidismo secundario, osteosarcoma), o bien daños hepáticos. El aumento fisiológico de los niveles plasmáticos de ALP se produce en animales en fase de crecimiento (formación de tejido óseo), o en hembras gestantes (fosfatasa alcalina de la placenta) (Bush, 1999).

Esta enzima también se utiliza como control de la adecuada pasteurización de la leche y crema, dado que la ALP se inactiva por calentamiento, el propósito de la prueba es el diagnóstico de enfermedades óseas en las cuales la actividad de las células óseas disminuye o aumenta; también se utilizan en el diagnóstico de

afecciones hepáticas tales como ictericia obstructiva (Lorenz *et al.*, 1990).

Depende por completo del método que se utiliza, por consiguiente, para interpretar un valor enzimático de un laboratorio concreto, es necesario conocer el intervalo normal de referencia de laboratorio para el método utilizado, y desde luego para las especies en cuestión (Doxey, 1987).

A diferencia de muchas otras enzimas el incremento de la actividad plasmática de la ALP se debe más a la inducción (es decir aumento de la síntesis), que al aumento de la liberación a partir de las células dañada. Posiblemente solo la ALP acabada de sintetizar puede salir de la célula y para el diagnóstico es útil conocer el origen del aumento de su actividad. Hay técnicas disponibles para separar la isoenzima y determinar su actividad de forma individual, por ejemplo la electroforesis, métodos inmunológicos y métodos cromatográficos (Noro and Wittwer, 2004).

La colestasis en particular induce la ALP hepática. El aumento de la actividad de la ALP es el indicador de colestasis más sensible porque se produce antes de que el aumento de los niveles plasmáticos de bilirrubina sea detectable. Probablemente los ácidos biliares estimulan la síntesis de ALP (Teijón, 2006).

El aumento de la actividad de la ALP hepática también se ha observado en caso de necrosis hepática y de inflamación, además, es inducido por fármacos como los barbitúricos y los anticonvulsivantes. En el perro la vida media de esta isoenzima es de tres días (Moreno Borque *et al.*, 2007).

En perros de menos de seis meses de edad, la actividad de la ALP puede ser hasta seis veces mayor que el límite superior normal de los adultos. Se han observado aumentos en galgos sometidos a entrenamiento (Runnells *et al.*, 1973).

### **2.2.3.3.1. Causas del incremento de la actividad plasmática de la ALP**

Los mayores incrementos se hallan en casos de colestasis e inducción por esteroides. La obstrucción biliar ya sea intra o extra hepática, causa colestasis y puede conducir a una ictericia obstructiva. El aumento de la actividad está relacionado con el grado de obstrucción completa en el perro y hasta 15 veces el límite superior normal en el gato, las causas son: compresión de los canalículos biliares por parte de los hepatocitos inflamados, compresión de los conductos biliares por parte de lesiones que ocupan espacio, como neoplasias o abscesos (ya sean intrahepáticas o extrahepáticas), acumulación difusa de tejido anormal en el hígado, por ejemplo: amiloide, tejido fibroso o tejido neoplásico, lesiones hepáticas tipo granulomatosas en infecciones crónicas diseminadas como la histoplasmosis, obstrucción del conducto biliar por parte de piedras en la vesícula biliar o pocas veces por ascáridos en migración, enfermedad quística congénita del árbol biliar por la ruptura del conducto biliar (Moreira, 2012).

Puede ser inducida por esteroides, los valores pueden tardar meses en volver a la normalidad. El aumento aparece tanto en hiperadrenocorticismos secundario como en caso de neoplasia adrenal; se observa un incremento marcado en el 95% de los perros, aunque no en los gatos. La terapia con glucocorticoides puede conducir al síndrome de Cushing. Los glucocorticoides ya sean endógenos o administrados, inducen una isoenzima específica de la ALP en perro, pero no en gato (fosfatasa alcalina inducida por esteroides), que actualmente se puede determinar por separado. Esta enzima explica los grandes incrementos en la actividad de la ALP en el perro hasta 200 veces más que el límite superior normal (Moreno Borque *et al.*, 2007).

En animales en crecimiento la isoenzima ósea de la ALP se encuentra en el plasma, especialmente en razas grandes. En ellos esta isoenzima es la que contribuye en mayor parte a la actividad total de la ALP. La



actividad puede ser seis veces mayor al límite superior normal debido a la elevada actividad osteoblástica (en especial en los 6-9 primeros meses de vida), aunque normalmente es mucho menor. Los niveles altos en animales jóvenes pueden por lo tanto ser normales si son inferiores a seis veces el límite superior normal (Vasudevan and Sreekumari, 2012).

La enfermedad ósea extensa o generalizada produce una elevada actividad osteoblástica, produce ligeros incrementos en la actividad de la ALP en perros y en algo mayores en gatos. Esto ocurre en los siguientes casos: hiperadrenocorticismo, la actividad de la ALP puede ser normal o estar elevada junto con cambio en los niveles de calcio y fósforo inorgánico, hiperparatiroidismo renal secundario, se debe comprobar el aumento de los niveles de urea y creatinina, hiperparatiroidismo nutricional secundario, hiperparatiroidismo primario y pseudo hiperparatiroidismo que se origina como consecuencia de tumores que no afectan a la paratiroides pero que producen hormona paratiroidea o una sustancia similar (principalmente linfosarcoma y adenocarcinoma perianales y perirectales) (Birchard and Sherding, 2002). La cicatrización ósea provoca un aumento de la actividad de la ALP (Latimer *et al.*, 2005).

Además del hiperadrenocorticismo y del hiperparatiroidismo, otras endocrinopatías pueden estar asociadas al aumento de la actividad de la ALP. En acromegalia el aumento se debe al efecto de la hormona del crecimiento sobre el hueso, a la lipidosis hepática o al efecto esteroideo de la progesterona y de los progestágenos (Birchard and Sherding, 2002).

En tumores tiroideos el aumento de la ALP en perros puede estar relacionado con la hipercalcemia (Medway *et al.*, 1980). En diabetes mellitus puede haber una actividad de la ALP elevada relacionada con la lipidosis hepática. Incrementos leves también pueden observarse en

casos de hipotiroidismo (inconstantes) hiperinsulinismo y síndrome de Zollinger-Ellison, (exceso de secreción de insulina) (Lawrence and Steiner, 2017). En neoplasia mamaria mixta, linfosarcomas, hemangiosarcomas, sarcomas indiferenciados, mastocitos, melanomas malignos y carcinomas orales se observan también incrementos en la actividad de la ALP (Fossum, 2008).

En septicemia y endotoxemia se observa un incremento ligero de la ALP, probablemente debido a daño hepático hasta cinco veces más que el límite superior normal en perros (Doxey, 1987). Un aumento en la actividad de la ALP puede ser inducido por anticonvulsivantes: primidona y fenitioma, el aumento es de 3 a 5 veces mayor al límite superior normal, barbitúricos, por ejemplo el fenobarbital aumenta la actividad hasta 30 veces el límite superior normal, dieldrin, mebendazol, tiacetersamida y ciertos antibióticos se han descrito como inductores de la actividad (Moreno Borque *et al.*, 2007).

#### **2.2.3.4. Daño hepático (hepatocelular)**

En general hay un aumento de la actividad de la ALT, AST y GGT, y otros cambios como disminuciones en la albúmina, la urea y posiblemente la glucosa. El aumento en la actividad de la ALP se explica en parte por la colestasis intrahepática producida por daños a los canalículos hepáticos, inflamación de los hepatocitos o fibrosis. Por consiguiente, las lesiones centro lobulillares dan lugar a un aumento menor de la actividad; sin embargo el incremento también puede ser debido a una lipidosis hepática (Ceron, 2013, Birchard and Sherding, 2002).

El daño hepático puede ser debido a enfermedades infecciosas, incluyendo la colangiohepatitis en donde el aumento de la ALP no es constante. Los fármacos y compuestos químicos, así como también las toxinas biológicas elevan los niveles de ALP. El aumento de la actividad de la ALP puede aparecer más tarde que en la ALT y la AST, y puede

continuar incrementándose en la recuperación en pacientes con enfermedad hepática, mientras que la actividad de la ALT y AST disminuyen. Y la hepatitis activa crónica que puede aparecer en enfermedades autoinmunes (Doxey, 1987).

#### **2.2.3.5. Gamma-glutamil transferasa (GGT)**

Cataliza la transferencia de grupos glutamil C-terminales de unos péptidos a otros o aminoácidos, es importante en el metabolismo del glutatión, la absorción de aminoácidos en la anti-oxidación. Se localiza en la membrana y citoplasma, su vida media es de 96 horas, es un indicador muy sensible de colestasis. Es específica de hígado y conductos biliares, páncreas, tracto gastrointestinal y renal (Noro and Wittwer, 2004).

La actividad de la GGT puede incrementarse por uso de fármacos (fenobarbital), colestasis, patologías hepáticas y en animales grandes, por patologías hepatobiliares (Ortiz, 2017, Doxey, 1987).

En el daño hepatocelular la magnitud del aumento no se correlaciona con la capacidad del hígado para recuperarse del daño o para funcionar normalmente; sin embargo refleja el número de hepatocitos implicados en un proceso agudo (Latimer *et al.*, 2005). La presencia de una actividad elevada indica la persistencia de la causa. Desde luego, el valor obtenido de una única muestra no es necesariamente el valor máximo. Las muestras pueden haber sido extraídas cuando la actividad aún está aumentando o bien están disminuyendo (Runnells *et al.*, 1973).

#### **2.2.3.6. Bilirrubina**

La BIL procede de la degradación de los eritrocitos viejos por parte del sistema mononuclear fagocitario, especialmente en el bazo. La BIL restante proviene de la degradación de la mioglobina, de los citocromos y de los eritrocitos inmaduros en la médula ósea. Esta BIL, no soluble en agua (indirecta), se acopla con la albúmina plasmática (seroalbúmina) y

es transportada hasta el hígado. Aquí la BIL indirecta se deshace de la unión de la albúmina y en los hepatocitos la BIL se conjuga con el ácido glucurónico, transformándose en BIL hidrosoluble directa, para ser excretada con la bilis al intestino (Montoya, 2017). En el presente trabajo se midió la BIL total, existen varios tipos de BIL según Moreira (2012) la BIL Hemolítica o Prehepática se asocia a un aumento en la producción de BIL debido a la necesidad de procesar grandes cantidades del grupo Hem, como ocurre durante la anemia hemolítica. Debido al incremento en la lisis de los GR se produce un aumento importante en los valores de BIL la cual no puede ser totalmente conjugada por los hepatocitos, por lo tanto, ese exceso de BIL se mantiene elevado en sangre periférica. La BIL hepatocelular, se produce ictericia hepatocelular se asocia a un deterioro de la captación hepática, la conjugación y la excreción de bilirrubina. Se observa en los trastornos hepáticos en los que además se produce una colestasis intrahepática. Y, por último, la BIL posthepática u obstructiva, se asocia a la interrupción del flujo en los conductos biliares extrahepáticos. Las causas más frecuentes son pancreatitis y neoplasias dentro y alrededor de la vesícula biliar y el colédoco. En este caso la BIL que llega al hígado lo hace en cantidad normal; como el hígado funciona normalmente conjuga toda la BIL que le llega, por lo tanto, no aumenta en sangre la BIL. La BIL directa que se conjugó en el hígado no puede avanzar hacia el intestino por la obstrucción del conducto biliar. La presión de la BIL directa produce una ruptura de los canalículos biliares y de esa forma la BIL directa se vuelca directamente a sangre incrementando sus valores. Al no llegar BIL directa al intestino no hay formación de estercobilinoides por lo cual las heces carecen de color (acólicas), el ciclo enterohepático está frenado y tampoco se produce la eliminación de urobilinoides. El exceso de BIL directa se elimina por orina por lo tanto también se detectará coluria.

Los tipos de BIL:

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

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

En el plasma existen cantidades bajas de BIL directa; en animales sanos la mayor parte de la BIL en plasma es indirecta. La directa no puede reabsorberse en el intestino, pero en el íleon y colon las enzimas bacterianas la convierten en urobilinógeno incoloro, reabsorbiéndose como tal en un 10-15% en la circulación portal hasta el hígado. La mayoría de este urobilinógeno se reexcreta en la bilis, aunque una parte se excreta por orina (Bush, 1999).

El urobilinógeno restante se oxida a estercobilina que da a las heces su característica en color marrón. Los incrementos de BIL pueden ser atribuidos a diversas causas. Un aumento de la tasa de BIL en suero (ictericia) tiene lugar en:

- a) Incremento de la producción de BIL: ictericia hemolítica o prehepática.
- b) Dificultad en la captación, conjugación o eliminación de la BIL por el hígado: ictericia hepatocelular (intrahepática u obstructiva (posthepática).
- c) En perros el aumento de la BIL directa solo se aprecia en presencia de una insuficiencia renal concomitante (Kraft and Dürr, 2000).

Causas de disminución en la Anemia hipoproliferativa atribuible a: Infección e inflamación crónica, neoplasia maligna, última fase de la enfermedad renal (Kraft and Dürr, 2000).

Causas de incremento BIL indirecta: Hemólisis aguda grave, absorción de un gran hematoma o hemorragia interna masiva, transfusión de eritrocitos almacenados. Aumento al mismo nivel de BIL directa e indirecta: Obstrucción del flujo biliar, consiguiente a una hemólisis intravascular aguda grave (o hematoma profuso o hemorragia interna masiva). BIL directa: Daño toxico (venenos, fármacos), enfermedades infecciosas, parásitos, dístomas, traumatismo grave, procesos hepáticos, hepatitis crónica activa, desordenes mieloproliferativos, daño hepático secundario. Obstrucción del tracto biliar: presión de los hepatocitos inflamados, lesiones que ocupan espacio (tumores, abscesos), deposición de tejido anormal en hígado, hepatitis piogranulomatosa, obstrucción del conducto biliar, inflamación del tracto biliar, insuficiencia cardiaca derecha, enfermedad quística congénita. Rotura del árbol biliar (Bush, 1999, Kraft and Dürr, 2000).

Cuadro 2. **Valores de enzimáticos de ALT, AST, GGT, ALP y de BIL referencia en caninos.**

Bioquímica	Valor Referencial	Unidades
ALT	20-100	U/L
AST	23-66	U/L
ALP	20-150	U/L
GGT	1-6	U/L
BIL	0,1-0,61	mg/dL

Adaptado de Rascón *et al.* (2012).

### **2.2.2. Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (IFCC)**

Es una organización global que promueve los campos de la química clínica y la medicina de laboratorio. Se estableció en 1952 como la Asociación Internacional de Bioquímicos Clínicos para organizar las diversas sociedades nacionales de estos campos. La organización tiene como objetivo trascender los límites del campo de la química clínica y la medicina de laboratorio, desarrollar el profesionalismo de los miembros en todo el mundo, difundir información sobre las "mejores prácticas" en varios niveles de tecnología y de desarrollo económico, proporcionar un foro de estandarización y trazabilidad para mejorar el nivel científico y la calidad del diagnóstico y la terapia para los pacientes (IFCC, 2021).

La membresía de la IFCC comprende 88 sociedades nacionales y está asociada con 5 Federaciones regionales, 49 miembros corporativos y 9 miembros afiliados que representan a 45 000 especialistas en medicina de laboratorio en todo el mundo (IFCC, 2021).

Cuadro 3. Condición Corporal

Valor	Nomenclatura	Descripción
1	Caquexia Más de un 20% por debajo de su peso ideal	Las costillas, la columna y los huesos de la pelvis son fácilmente visibles.  Pérdida evidente de masa muscular.  No se palpa tejido graso sobre la caja torácica.
2	Delgadez Entre un 10% y 20% por debajo del peso óptimo.	Se ven las costillas, las crestas vertebrales y los huesos de la pelvis.  Cintura abdominal evidente.  No se palpa tejido graso sobre la caja torácica.
3	Peso ideal	No se ven las costillas, ni la columna vertebral, pero es fácil parparlas.  Cintura pélvica evidente.  Se palpa una delgada capa de tejido adiposo sobre la capa torácica.
4	Exceso de peso	Se palpa con dificultad las costillas y la columna vertebral.  Ausencia de cintura abdominal.  Evidente depósito adiposo sobre la columna vertebral y la base de la cola.
5	Obesidad A partir de un 40% por encima del peso ideal	Masivo depósito sobre tórax, columna vertebral y la base de la cola.  Evidente distensión abdominal.

(Rascón *et al.*, 2012).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de los consultorios médico veterinarios VETCAN, DOG´LE, SAMA, Dr. LEO y MACH en los cuales se llevó a cabo el examen clínico, llenado de ficha clínica (Anexo 1) y pruebas auxiliares (ecografía) de los caninos con enfermedad hepática. Las pruebas de laboratorio fueron realizadas en el Laboratorio “Centro de diagnóstico Santa María” ubicado en Jr. Las Cucardas 385, Cajamarca.

La ciudad de Cajamarca presenta las siguientes características meteorológicas y demográficas:

• Superficie	:	3 541 782 Km <sup>2</sup>
• Población	:	1 529 755 hab.
• Densidad	:	43,7 Hab/km <sup>2</sup>
• Altitud	:	2750 msnm
• Temperatura máxima promedio *	:	22,1 °C
• Temperatura media anual*	:	14,9 °C
• Temperatura mínima promedio *	:	8,2 °C
• Precipitación pluvial anual *	:	537 mm
• Humedad relativa media anual*	:	64,5 %
• Humedad mínima promedio *	:	36,7%
• Humedad máxima promedio *	:	87,7 %
• Presión atmosférica *	:	1028 hPa

---

(\*) Fuente: Servicio Nacional de Meteorológico e Hidrología (SENAMHI, 2019)

## **3.2. Materiales**

### **3.2.1. Material biológico**

Caninos mayores de tres meses diagnosticados con hepatopatías.

### **3.2.2. Materiales para la toma de muestra**

- Ficha clínica
- Estetoscopio
- Termómetro
- Balanza Mettler (0-100 kg)
- Guantes desechables talla M
- Tubos colectores de sangre tapa roja de 4,5 mL
- Jeringas desechables de 3 mL
- Alcohol 96°
- Algodón
- Papel toalla
- Lapicero de tinta indeleble punta fina

### **3.2.3. Material de laboratorio**

- 02 Micro pipetas de 100-1000  $\mu$ L
- 01 Micro pipeta de 0-200  $\mu$ L
- 01 Micro pipeta de 0-50  $\mu$ L
- Puntas para micro pipetas de 1000  $\mu$ L
- Puntas para micro pipetas de 200  $\mu$ L
- Tubos eppendorf de 1000  $\mu$ L

### **3.2.4. Material químico y fármacos**

- Agua destilada
- Kit para determinación de enzimas ALT (FARLAB)
- Kit para determinación de enzimas AST (FARLAB)
- Kit para determinación de enzimas GGT (FARLAB)
- Kit para determinación de enzimas ALP (FARLAB)
- Kit para determinación de BIL (FARLAB)

### **3.2.5. Equipos y dispositivos**

- Centrífuga
- Calentador baño maría
- Refrigeradora
- Cámara fotográfica digital marca Canon 5i
- Cronómetro
- Espectrofotómetro marca Mannher Boehring modelo Photometer 4010

### **3.2.6. Material de Escritorio**

- Cuaderno de notas
- Laptop
- Papel bond
- Lapiceros y marcadores

## **3.3. Metodología**

### **3.3.1. Unidad de análisis, universo y muestra**

#### **3.3.1.1. Unidad de análisis**

La unidad de análisis fueron los caninos mayores de tres meses con diagnóstico de hepatopatías y signos compatibles, entre los meses de agosto del 2018 a diciembre del 2019.

#### **3.3.1.2. Universo y muestra**

##### **3.3.1.2.1. Universo**

Todos los pacientes caninos mayores de tres meses que ingresaron a consulta a los consultorios médico veterinarios VETCAN, DOG´LE, SAMA, Dr. LEO y MACH durante los meses de agosto del 2018 a diciembre del 2019.

##### **3.3.1.2.2. Muestra**

Todos los pacientes caninos mayores de tres meses que presenten signos clínicos relacionados con problemas hepáticos totalizando 46 casos.

### **3.3.2. Tipo de estudio**

Es un estudio descriptivo, explicativo y analítico.

### **3.3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.3.3.1. Identificación de los pacientes**

Los análisis se realizaron a todos los pacientes caninos mayores a tres meses, sin ninguna restricción de raza, peso, tamaño (la condición corporal se estableció de acuerdo al anexo 3) y presencia de signos clínicos compatibles con problemas hepáticos (Anexo 1) que asistieron a consulta a los consultorios Médicos Veterinarios desde los meses de agosto del 2018 a diciembre del 2019. Los animales que se incluyeron en el estudio fueron aquellos cuyos propietarios aceptaron mediante su consentimiento el participar en la investigación. Se los estratificó por grupos de edades: de 2-3 años, de 4-7 años y de 7 años 1 día a más años.

Se determinó la edad por información proporcionada por el propietario a través de su tarjeta de vacunación.

Se determinó el peso mediante balanza.

Se determinó el sexo mediante observación directa de los genitales de los pacientes caninos.

#### **3.3.3.2. Examen clínico del paciente**

Se evaluaron todos los caninos sin distinción de raza y sexo que llegaron a los consultorios Médico Veterinarios VETCAN, DOG´LE, SAMA, Dr. LEO y MACH durante los meses de agosto del 2018 a diciembre del 2019 un total de 16 meses.

Se llenó en primer lugar la ficha clínica (Anexo 1) y se realizó el examen clínico completo (reseña, anamnesis, inspección, palpación, percusión y auscultación) a aquellos pacientes que presentaron signos o se sospechó de patología hepática, estos últimos fueron revisados

mediante ecografía de acuerdo al diagnóstico según Nyland and Mattoon (2004).

### 3.3.3.3. Muestra de investigación

Suero sanguíneo de caninos mayores a tres meses.

### 3.3.3.4. Obtención del suero

Para la determinación de enzimas hepáticas se usó suero a partir de sangre extraída de la vena cefálica (3-4 mL) mediante punción con aguja hipodérmica 21G ½.

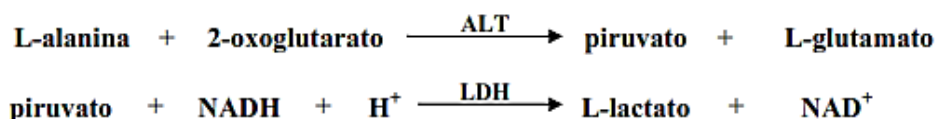
La sangre se recolectó en un tubo de ensayo limpio, estéril y seco (tapa roja). Luego se procedió a centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos para la separación del suero. El suero se colocó en un pequeño vial previamente identificado.

## 3.3.4. Procesamiento del suero sanguíneo

### 3.3.4.1. Determinación de la enzima ALT

Para estimar los niveles de ALT en suero se utilizó el Kit comercial GPT (ALT), AA línea Líquida UV según la International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC).

### 3.3.4.2. Fundamento: basado en el siguiente esquema reaccionante



### 3.3.4.3. Condiciones de reacción

- Longitud de onda: 340 nm.
- Temperatura de reacción: 37° C.
- Tiempo de reacción: 4 minutos.

- Volúmenes de muestra y reactivos: 100 µL muestra + 1 mL de reactivo único.

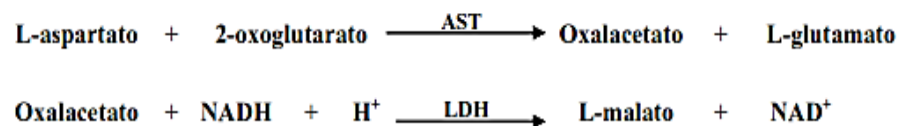
#### 3.3.4.4. Procedimiento

De acuerdo al manual del Kit GPT (ALT) AA línea Líquida UV Wiener lab (Cétola, 2000a).

#### 3.3.4.2. Determinación de la enzima AST

Para estimar los niveles de AST en suero se utilizó el Kit comercial GOT (AST) AA línea Líquida UV, según IFCC.

##### 3.3.4.4.1. Fundamento: Basado en el siguiente esquema reaccionante



##### 3.3.4.4.2. Condiciones de reacción

- Longitud de Onda: 340 nm.
- Temperatura de reacción: 37° C.
- Tiempo de reacción: 4 minutos.
- Volúmenes de muestra y reactivos: 100 µL muestra + 1 mL de reactivo único.

##### 3.3.4.4.3. Procedimiento

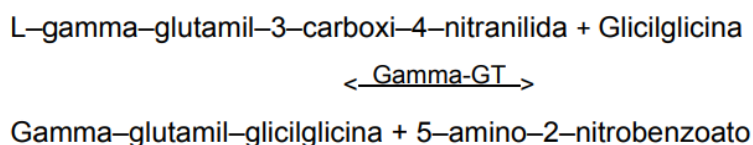
De acuerdo al manual del Kit GOT (AST) AA línea Líquida UV Wiener lab (Cétola, 2000a).

#### 3.3.4.5. Determinación de la enzima GGT

Para estimar los niveles de GGT en suero se utilizó el Kit comercial GGT AA línea Líquida UV, según IFCC.

### 3.3.4.5.1. Fundamento

La Gamma-GT cataliza la transferencia de ácido glutámico a los aceptores como la glicilglicina en este caso. Este proceso libera 5-amino-2-nitrobenzoato el cual puede ser medido a 405 nm. El aumento en la absorbancia a esta longitud de onda está directamente relacionado con la actividad de gamma-GT.



### 3.3.4.5.2. Condiciones de reacción

- Longitud de Onda: 405 nm (400 – 420 nm)
- Temperatura de reacción: 37° C.
- Tiempo de reacción: 4 minutos.
- Volúmenes de muestra y reactivos: 100 µL muestra + 1 mL de reactivo 1 + 1 mL de reactivo 2.

### 3.3.4.5.3. Procedimiento

De acuerdo con el manual del reactivo de diagnóstico para la determinación In Vitro de la gamma glutamiltransferasa (Gamma-GT) en suero o plasma en equipos fotométricos

### 3.3.4.5.4. Determinación de la enzima ALP

Para estimar los niveles de ALP en suero se utilizó el Kit comercial ALP AA línea Líquida UV, según IFCC.

### 3.3.4.5.5. Fundamento

La fosfatasa alcalina hidroliza al p-nitrofenilfosfato (p-NFF), que es incoloro, produciendo fosfato y p-nitrofenol a pH alcalino. La velocidad de aparición del anión p-nitrofenolato (amarillo) a 405 nm es proporcional a la actividad enzimática de la muestra (Mc Comb and Bowers, 1972).

#### **3.3.4.5.6. Condiciones de reacción**

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 o 37 °C.
- Tiempo de reacción: 3 minutos y 20 segundos
- Volumen de muestra: 10 U/L
- Los volúmenes de muestra y de reactivo pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

#### **3.3.4.5.7. Procedimiento**

De acuerdo con Wiener Laboratorios®.

#### **3.3.4.5.8. Determinación de BIL total**

Para estimar los niveles de BIL en suero se utilizó el Kit comercial BIL total AA línea Líquida UV, según IFCC.

#### **3.3.4.5.9. Fundamento**

La BIL reacciona específicamente con el ácido sulfanílico diazotado produciendo un pigmento color rojo-violáceo (azobilirrubina) que se mide fotocolorimétricamente a 530 nm. Si bien la BIL conjugada (directa) reacciona directamente con el diazorreactivo, la BIL no conjugada (indirecta) requiere la presencia de un desarrollador acuoso (Reactivo A) que posibilite su reacción. De forma tal que, para que reaccione la BIL total (conjugada y no conjugada) presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción.

#### **3.3.4.5.10. Condiciones de reacción**

- Longitud de onda: 530 nm en espectrofotómetro.
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 200 uL
- Volumen final de reacción: 2.9 mL.



#### **3.3.4.5.11. Procedimiento**

De acuerdo con Wiener Laboratorios®.

### **3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se utilizó el paquete estadístico STATA 8.0 para encontrar la media, desviación estándar y la correlación de Chi cuadrado para establecer la relación entre las variables estudiadas edad, sexo y condición corporal.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

Tabla 1. Valores enzimáticos, de Alanino amino transferasa (ALT), Aspartato amino transferasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP), Gamma glutamil transpeptidasa (GGT) y bilirrubina (BIL) en suero de caninos (*Canis lupus familiaris*) mayores de tres meses con diagnóstico de hepatopatías por grupos de edad.

EDAD			
Bioquímica hepática	2-3 años	4-7 años	Más de 7 años
<b>ALT U/L</b>	<b>152,78 ± 62,0</b>	<b>162,48 ± 140,21</b>	<b>179,72 ± 149,58</b>
<b>AST U/L</b>	196 ± 127,52	112,17 ± 71,89	151,65 ± 189,69
<b>GGT U/L</b>	5,87 ± 1,62	6,92 ± 2,39	7,18 ± 2,11
<b>BIL total (mg/dL)</b>	0,66 ± 0,417	2,37 ± 4,59	0,68 ± 0,52
<b>ALP (U/L)</b>	119,42 ± 12,14	112,77 ± 77,59	91,28 ± 32,73

La Tabla 1, muestra los valores medios determinados en pacientes con hepatopatías. En los pacientes de 2 a 3 años, ALT es de 152,78 ± 62,0, AST es 196 ± 127,52 U/L, BIL 0,66 ± 0,417 mg/dL y de ALP 119,42 ± 12,14 U/L, lo cual comparado con los valores referenciales se encuentra por encima de lo normal, mientras que la enzima GGT 5,87 ± 1,62 U/L se encuentra dentro de los rangos normales; los valores medios encontrados en los pacientes de 4 a 7 años, ALT es de 162,48 ± 140,21 U/L, AST es 112,17 ± 71,89 U/L, GGT 6,92 ± 2,39 U/L, BIL 2,37 ± 4,59 mg/dL y ALP 112,77 ± 77,59 U/L, en este grupo etario los valores encontrados se encuentran por encima de lo normal. Los valores medios encontrados en los pacientes de más de 7 años, de ALT es de 179,72 ± 149,58 U/L, AST es 151,65 ± 189,69 U/L U/L, GGT 7,18 ± 2,11 U/L, BIL 0,68 ± 0,52 mg/dL, los valores están por encima de los valores normales, mientras que, el valor medio de ALP 91,28 ± 32,73 U/L se encuentra en el rango normal.

Tabla 2. Relación de los valores de las enzimas Alanino aminotransferasa (ALT), Aspartato Aminotransferasa (AST), Fosfatasa Alcalina (ALP), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) y Bilirrubina (BIL) en caninos (*Canis lupus familiaris*) mayores de tres meses con diagnóstico de hepatopatías en la ciudad de Cajamarca, con la edad, sexo y condición corporal (CC).

	Valor Chi Cuadrado	Grados de libertad.	P valor
<b>ALT vs Edad</b>	4,652 <sup>a</sup>	4	0,325
<b>ALT vs Sexo</b>	1,480 <sup>a</sup>	2	0,477
<b>ALT vs CC</b>	4,986 <sup>a</sup>	6	0,546
<b>AST vs Edad</b>	12,259 <sup>a</sup>	4	0,016
<b>AST vs Sexo</b>	0,697 <sup>a</sup>	2	0,706
<b>AST vs CC</b>	7,814 <sup>a</sup>	6	0,252
<b>GGT vs Edad</b>	4,683 <sup>a</sup>	4	0,321
<b>GGT vs Sexo</b>	0,627 <sup>a</sup>	2	0,731
<b>GGT vs CC</b>	6,333 <sup>a</sup>	6	0,387
<b>BIL vs Edad</b>	3,821 <sup>a</sup>	2	0,148
<b>BIL vs Sexo</b>	0,001 <sup>a</sup>	1	0,978
<b>BIL vs CC</b>	12,283 <sup>a</sup>	3	0,006
<b>ALP vs Edad</b>	4,293 <sup>a</sup>	4	0,368
<b>ALP vs Sexo</b>	2,569 <sup>a</sup>	2	0,277
<b>ALP vs CC</b>	18,653 <sup>a</sup>	6	0,005

\*La letra "a" significa que tiene una frecuencia esperada menor al 20% lo que le da validez al resultado porque es asintótica.

La Tabla 2, nos muestra la correlación de Pearson para las variables sexo, edad y condición corporal. En el caso de la relación de las enzimas ALT, GGT, ALP, y BIL y su relación con la edad no es significativa ( $p \geq 0,05$ ). La relación de ALT, AST, GGT, ALP y BIL con sexo no es significativa ( $p \geq 0,05$ ). La relación de ALT, AST y GGT con la condición corporal no es significativa ( $p \geq 0,05$ ). Existe relación altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ) en la enzima AST y la edad, ALP y CC; y en la relación de BIL y CC.

**Tabla 3. Relación entre las variables edad, sexo, condición corporal y hepatopatías confirmados con Ecógrafo**

Nombre paciente canino	Edad	sexo	Condición corporal (CC)*	Hepatopatía
Valentín	06 años	macho	3	Colangioma
Roco	10 años	macho	3,5	Hepatomegalia
Rances	10 años	macho	4	Hepatitis
Rufus	9 años	hembra	3	Hígado graso
Shadow	7 años	macho	2,5	Cirrosis

(\*) La condición corporal según criterio del investigador en base al enfoque de Rascón, P.M.

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizaron los valores enzimáticos de ALT, AST, GGT, ALP y la concentración de BIL en suero sanguíneo para establecer si existe algún tipo de hepatopatía ya sea en el parénquima hepático o en las vías de conducción de bilis, los resultados se muestran en la tabla 1, esto concuerda con lo descrito por Mira (2018), ya que la ALT y AST son los indicadores más comúnmente utilizados para evaluar la presencia de necrosis hepática porque el daño del hígado tiene múltiples etiologías, la AST y ALT nos indican daño hepatocelular y las indicadores de colestasis son ALP, GGT y BIL. El incremento de las enzimas en suero, es proporcional al número de hepatocitos dañados, sin embargo, no se puede establecer adecuadamente el estado funcional del hígado y no permite, además, conocer el grado de reversibilidad del proceso, es por ello que según Lawrence and Steiner (2017) el título de BIL varía dependiendo de los distintos tipos de ictericia (prehepática o hemolíticahepatocelular y poshepática u obstructiva) (Lawrence and Steiner, 2017).

El aumento de ALT encontrado puede estar asociado a procesos inflamatorios (reversibles) hepáticos y también a procesos de necrosis, en el presente estudio se observó una tendencia a incrementar con la edad la actividad enzimática de ALT. En la tabla 1 se observa el incremento de esta enzima en los diferentes grupos de edad de los caninos estudiados, este incremento puede deberse al efecto de la edad sobre esta enzima y está acorde con Mundim *et al.* (2007) y Montoya (2017) quienes mencionan que los aumentos de ALT se deben a variaciones fisiológicas relacionadas con la edad, la acción hormonal y las fases reproductivas (gestación, lactancia).

Los valores enzimáticos de GGT en los caninos analizados (Tabla 1) tienen valores enzimáticos por encima de lo normal, son similares a los reportados por Mira (2018) y Birchard and Sherding (2002), como la GGT se localiza en la membrana canalicular de los hepatocitos, el aumento sérico es más frecuente en los trastornos colestásicos y se asocia a un aumento de la síntesis y liberación a nivel de la membrana presente en el endotelio biliar, además conforme lo describe Bush (1999), Ceron (2013) y Persijn and Van der Silk (1976) la GGT se incrementa cuando existe alguna patología de hígado, por daño canalicular, en casos de colestasis, hiperplasia de ductos biliares, cirrosis y colangiocarcinoma.

La ALP se ve ligeramente incrementada en los grupos etarios de 2 a menores de 7 años, pero no sobrepasa el valor referencial, la ALP sirve para determinar problemas a nivel de los canaliculos biliares, según Teijón (2006) es una enzima de muy baja especificidad para la determinación de hepatopatías, ya que, aumenta más en problemas de colestasis que hepatocelulares, aunque además por lo reportado por Voet and Voet (2006), puede incrementarse por la administración de algunos fármacos (fenobarbital, corticosteroides). Los valores aumentados concuerdan con lo reportado por Coppo and Mussart (2000), ya que en animales en crecimiento-puede llegar a ser normales valores 2 o 3 veces por encima de los de referencia en adultos.

Adicionalmente por lo descrito por Highman and Atland (1960) la altitud podría influir en el aumento de la ALP, la hipoxia a gran altitud provoca el aumento de ciertos valores de las enzimas en suero mediante el aumento de la permeabilidad selectiva celular para tales enzimas.

Los valores altos de BIL en los grupos analizados es elevado, sin embargo en el grupo de 4 a 7 años, este valor es aún mayor siendo de  $2,37 \pm 4,59$  mg/dL, en estos pacientes se presentó ictericia, esto concuerda a lo que menciona Wallach (2003), la BIL no es un indicador sensible de daño hepático, sin embargo, por encima de los 2,5 mg/dL aparece ictericia clínica, y puede haber

ictericia precedida de aumento de la ALP, es por ello que adicionalmente a las enzimas encontradas es mejor realizar el tiempo de protombina (TP).

En los análisis de correlación entre las enzimas analizadas AST, GGT, ALP y BIL (Tabla 2), con respecto a las variables edad, sexo y condición corporal solo se encontró relación significativa entre la enzima AST y edad ( $p \leq 0,01$ ) esto concuerda con otras investigaciones con respecto a la edad, según Mundim *et al.* (2007), Moreira (2012) y Montoya (2017) para el factor sexo no hay relevancia estadísticamente alguna entre machos y hembras ni el factor edad. Además, hay relación de la BIL y ALP con la variable condición corporal y es altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ) lo que concuerda con Peña (2015) quien sugiere que la obesidad está asociada a las alteraciones de algunos parámetros analíticos, existiendo mayores niveles en obesos respecto a los normoponderales para los valores de glucemia, proteínas totales en sangre, trigliceridemia y colesterolemia total. En el presente trabajo en relación al género no se observaron diferencias significativas en AST, ALT, GGT, ALP y BIL total lo cual coincide con los trabajos de Pasquini *et al.* (2008) y Montoya (2017).

## **CAPÍTULO VI**

### **CONCLUSIONES**

- 6.1. Los valores plasmáticos de las enzimas ALT, AST, GGT, ALP y BIL están aumentados en 46 caninos en la ciudad de Cajamarca indican que estos animales tienen algún daño hepático, hepatocelular o canalicular.
- 6.2. Hay relación altamente significativa entre la enzima la AST con relación a la edad ( $p \leq 0,01$ ), además, hay relación de la BIL y ALP con la variable condición corporal es altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ), por lo que la condición corporal influye en el aumento de los valores de las enzimas hepáticas.



## CAPÍTULO VII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARDERIU, X. F. 1998. Bioquímica clínica y patología molecular, Reverté.
- BIRCHARD, S. J. & SHERDING, R. G. 2002. Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies, McGraw-Hill, Interamericana de España.
- BUSH, W. 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales, Ediciones S.
- CERON, J. 2013. Análisis clínico en pequeños animales.
- CÉTOLA, V. 2000a. Vademécum Wiener laboratorios. Wiener lab. Rosario-Argentina.
- CÉTOLA, V. 2000b. Vademécum Wiener laboratorios". Wiener lab. Rosario-Argentina.
- COPPO, J. & MUSSART, N. 2000. Apoyatura bioquímica al diagnóstico veterinario, casuística registrada tras 25 años de funcionamiento de un servicio de análisis clínico. Rev. Vet., 11, 34-41.
- DEVLIN, T. M. 1999. Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas, Reverté.
- DOXEY, D. L. 1987. Patología clínica y procedimientos de diagnóstico en veterinaria, El Manual Moderno.
- ETTINGER, S. J. & FELDMAN, E. C. 2009. Textbook of Veterinary Internal Medicine - eBook, Elsevier Health Sciences.
- FIGUEROA, M. 1984. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica, Editorial Universidad Estatal a Distancia.
- FOSSUM, T. W. 2008. Cirugía en pequeños animales, Elsevier Health Sciences.
- GOMEZ, A. & BEXFIELD N, & SCACE, T. & HOLMES, MA & WATSON. 2014. Total serum bilirubin as a negative prognostic factor in idiopathic canine chronic hepatitis. Vet diagn invest.
- HIGHMAN, B. & ATLAND, P. 1960. Serum enzyme rise alter hipoxia and effect of autonomic blockade. Am J Physiol, 199.

- IFCC. 2021. The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, [Online]. Milano, Italy: IFCC. Available: <https://www.ifcc.org/> [Accessed 08 de abril 2021].
- KAHN, C. M. 2007. El manual Merck de veterinaria, Oceano Difusion Editorial S A.
- KRAFT, W. & DÜRR, U. M. 2000. Diagnóstico de Laboratorio Clínico en Veterinaria., Barcelona - España, Editores Médicos.
- LATIMER, K. S., MAHAFFEY, E. A. & PRASSE, K. W. 2005. Duncan & Prasse's Patología clínica veterinaria, Multimédica Ediciones Veterinarias.
- LAWRENCE, Y. A. & STEINER, J. M. 2017. Laboratory Evaluation of the Liver. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, 47, 539-553.
- LORIA, C. 2009. Medicina interna de la hepatitis crónica. Escuela de Medicina veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica.
- LORENZ, M. D., CORNELIUS, L. M. & VILAS, J. M. T. 1990. Diagnóstico médico de los pequeños animales, Acribia.
- LUDEÑA, M. 2009. La enzimología, El Cid Editor | apuntes.
- MC COMB, R. & BOWERS, G. 1972. ALP. Clin. Chem, 18, 2:97.
- MEDWAY, W., PRIER, J. E. & WILKINSON, J. S. 1980. Patología clínica veterinaria, UTEHA.
- MEYER, D. J. & HARVEY, J. W. 2000. El laboratorio en medicina veterinaria: interpretación & diagnóstico, Inter-médica.
- MIRA, G. A. 2018. Hepatopatías en caninos y felinos. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Buenos Aires.
- MONTOYA, A. 2017. Valores bioquímicos indicadores de funcionamiento Hepático y renal en perros clínicamente sanos clasificados por edad y género. Para optar el título de Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Universidad de Aguas Calientes.
- MOREIRA, L. 2012. Determinación del perfil hepático de perros geriátricos mediante pruebas específicas de laboratorio. Tesis para obtener el título de Médico Veterinario y Zootecnista Universidad de Guayaquil.
- MORENO BORQUE, A., GONZÁLEZ MORENO, L., MENDOZA-JIMÉNEZ, J., GARCÍA-BUEY, L. & MORENO OTERO, R. 2007. Utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. Anales de Medicina Interna, 24, 38-46.

- MUNDIM, A. V., COELHO, A. O., HORTÊNCIO, S. M., GUIMARÃES, E. C. & ESPINDOLA, F. S. 2007. Influence of age and sex on the serum biochemical profile of Doberman dogs in the growth phase. *Comparative Clinical Pathology*, 16, 41-46.
- MURRAY, R. K. 2010. *Harper bioquímica ilustrada*, McGraw-Hill Interamericana de España S.L.
- MUSSMAN, H. C. & VALENCIA, G. R. 1978. *Patología clínica veterinaria*, ICA (Instituto Colombiano Agropecuario).
- NELSON, D. L., COX, M. M. & LEHNINGER, A. L. 2006. *Principios de bioquímica*, Omega.
- NORO, M. & WITTEWER, F. 2004. Enzimas hepáticas de utilidad diagnóstica en la clínica de los animales domésticos.
- NYLAND, T. G. & MATTOON, J. S. 2004. *Diagnóstico ecográfico en pequeños animales*, Multimédica.
- ORTIZ, S. 2017. Efecto de la edad y el sexo sobre los valores séricos de transaminasas: alanina aminotransferasa (alt) y aspartato aminotransferasa (ast) en caninos adultos (*Canis lupus familiaris*) clínicamente sanos en la ciudad de Chiclayo. Para optar el grado de Médico Veterinario, Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo.
- PASQUINI, A., LUCHETTI, E. & CARDINI, G. 2008. Plasma lipoprotein concentrations in the dog: the effects of gender, age, breed and diet. *Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92.
- PEÑA, C. 2015. *Obesidad canina: repercusiones clínicas y factores relacionados (presión arterial y parámetros metabólicos)*. Para optar el grado de Doctor en Ciencias, Universidad de las Palmas Gran Canaria.
- PÉREZ, F. H. 2014. *MIP. Manual de medicina de urgencias*, Editorial El Manual Moderno.
- PERSIJN, J. & VAN DER SILK, W. 1976. New method for the determination of gamma-glutamyltransferase in serum. *J Clin Chem Clin Biochem*, 14, 421-7.
- RASCÓN, P. M., RODRÍGUEZ, A. G. & RODRÍGUEZ, J. M. 2012. *Manual clínico del perro y el gato*, Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Córdoba, Departamento de Medicina y Cirugía Animal.
- REDVET. 2010. *Revista electrónica de veterinaria*. Editorial REDVET, Málaga, 1-3.
- RUNNELLS, R., MONLUX, W. S. & MONLUX, A. W. 1973. *Principios de patología veterinaria: anatomía patológica*, Continental.

- SODIKOFF, C. 1996. Pruebas diagnósticas y de laboratorio en las enfermedades de pequeños animales, Mosby.
- TEIJÓN, J. M. 2006. Fundamentos de bioquímica estructural, Tébar.
- VASUDEVAN, D. & SREEKUMARI, S. 2012. Texto de Bioquímica para Estudiantes de Medicina, Cuéllar Ayala.
- VOET, D. & VOET, J. G. 2006. Bioquímica, Editorial Médica Panamericana S.A.
- WALLACH, J. 2003. Enfermedades hepatobiliares y pancreáticas In Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio., Masson.
- WILLARD, M. D. & TVEDTEN, H. 2004. Diagnóstico clinicopatológico práctico en los pequeños animales, Inter-Médica.

**ANEXO. Anexo 1. Ficha Clínica****I. DATOS DEL PACIENTE**

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

Especie: \_\_\_\_\_

Raza: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

**II. DATOS DEL PROPIETARIO**

Nombre del propietario: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Correo: \_\_\_\_\_

**Constantes fisiológicas**

- Temperatura: \_\_\_\_\_ Condición corporal: \_\_\_\_\_
- F.C: \_\_\_\_\_
- Pulso: \_\_\_\_\_
- Hidratación \_\_\_\_\_
- F. Resp: \_\_\_\_\_
- Ganglios: \_\_\_\_\_

**III. ANAMNESIS**

Diuresis: \_\_\_\_\_

- Apetito: \_\_\_\_\_
- Color de Mucosas \_\_\_\_\_
- Defeca: \_\_\_\_\_
- Presenta respiración normal: Si No
- Se agita: Si No
- Color de las heces \_\_\_\_\_
- Color de la orina \_\_\_\_\_

**IV. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS**

- Ecografía:
- Bioquímica Sanguínea.

**Anexo 2.****Tabla 3. Estadística descriptiva de los datos.**

	ALT	AST	GGT	Bil	ALP
<i>Columna1</i>					
Media	179.727273	151.654545	7.18409091	0.67681818	91.2818182
Error típico	31.891233	40.4430184	0.45064151	0.11178285	6.97850638
Mediana	120.4	90.1	8.18	0.53	87.35
Moda	#N/D	#N/D	8.6	0.58	#N/D
Desviación estándar	149.583142	189.694571	2.11369606	0.52430804	32.7320963
Varianza de la muestra	22375.1164	35984.0302	4.46771104	0.27489892	1071.39013
Curtosis	2.91380753	9.07145878	-0.45722354	11.2386149	2.24231452
Coefficiente de asimetría	1.71224622	2.99394264	-0.8906381	3.22722234	1.05589567
Rango	583.1	806.2	7.04	2.41	144
Mínimo	46.3	34.4	2.42	0.29	43
Máximo	629.4	840.6	9.46	2.7	187
Suma	3954	3336.4	158.05	14.89	2008.2
Cuenta	22	22	22	22	22

**Anexo 3.**

Pruebas de Chi cuadrado

Tabla 4. Pruebas de Chi cuadrado

<b>Pruebas de Chi-cuadrado</b>			
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	18,653 <sup>a</sup>	6	0,005
Razón de verosimilitud	15,091	6	0,020
N de casos válidos	46		
a. 8 casillas (66,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,26.			

## Anexo 4. Condición Corporal

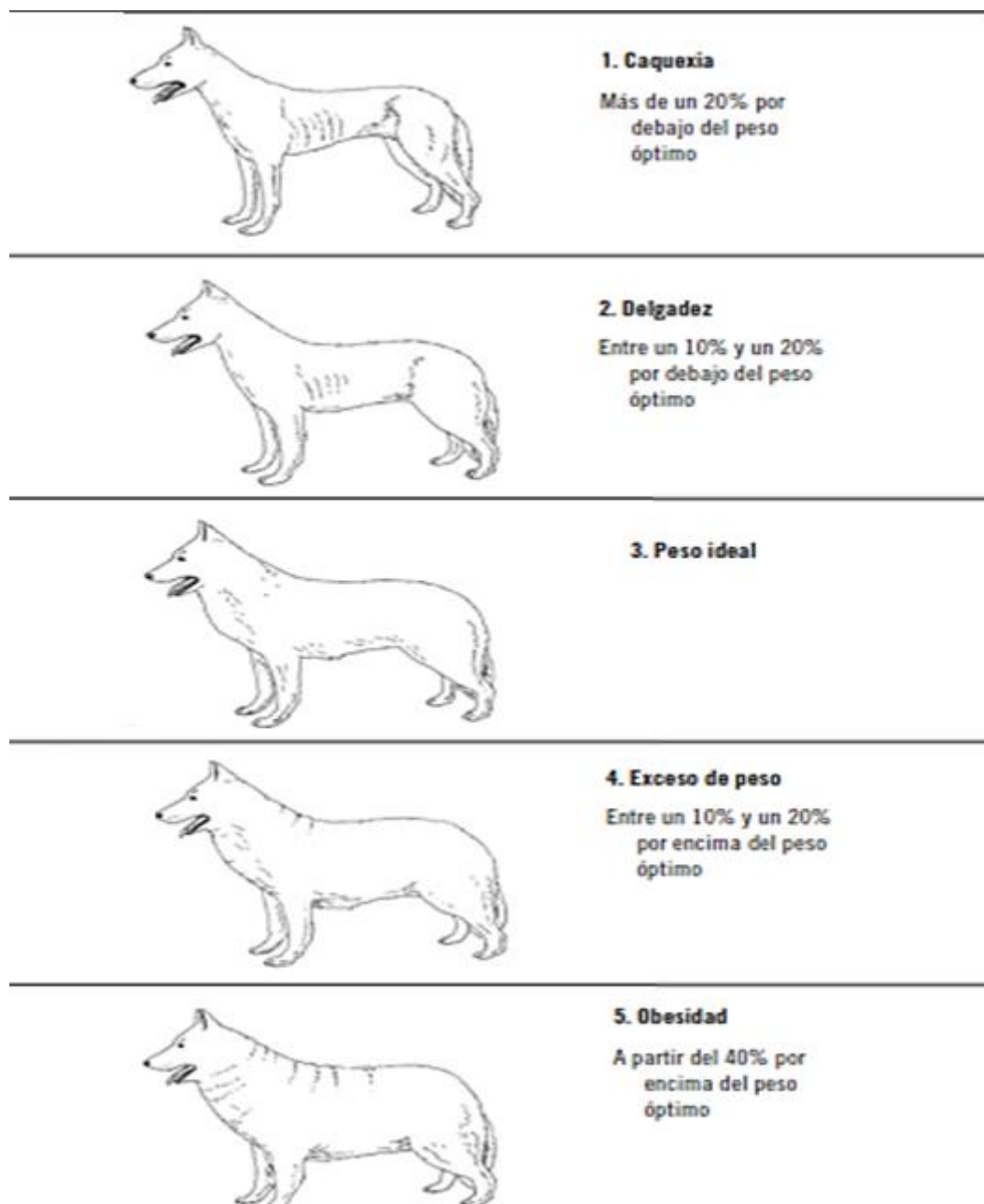


Figura 1. Condición corporal (Rascón *et al.*, 2012).

### Anexo 5. hepatopatías confirmadas mediante diagnóstico de imágenes con Ecógrafo

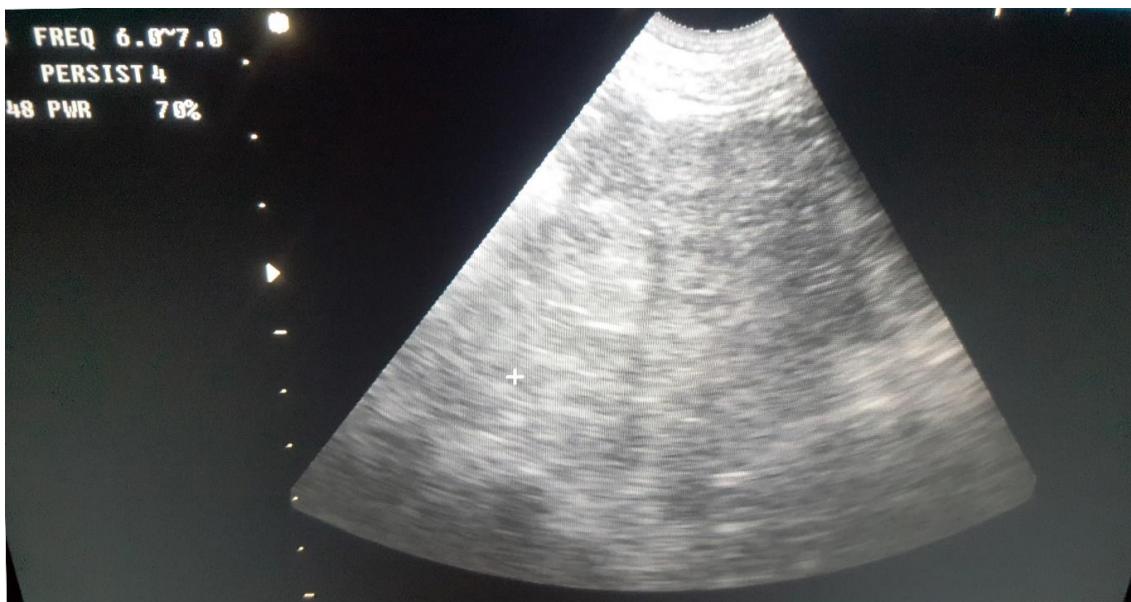


Figura 2. Paciente canino macho, de 6 años de edad. Corte transversal del hígado, la ecogenicidad del parénquima es mixta, hiperecogénico (A) e hiperecogénico (C), las flechas muestran dilatación de los conductos hepáticos.

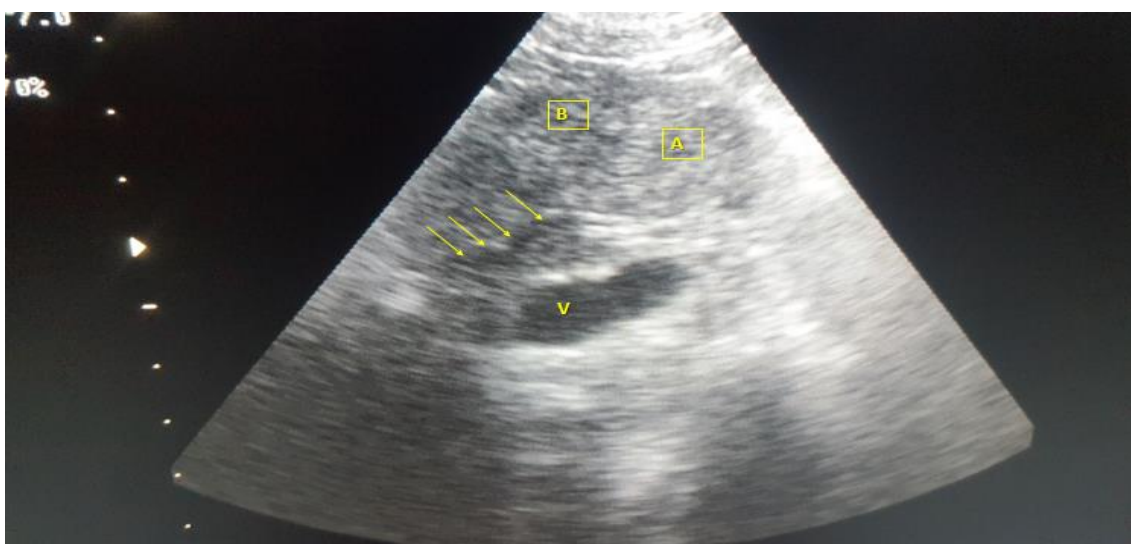


Figura 3. Paciente canino de 10 años, macho. Corte longitudinal del hígado, la ecogenicidad del órgano es mixta (A y B), leve dilatación de los conductos hepáticos (flechas), la vesícula tiene contenido hipo ecogénico, el hígado esta ligeramente agrandado.



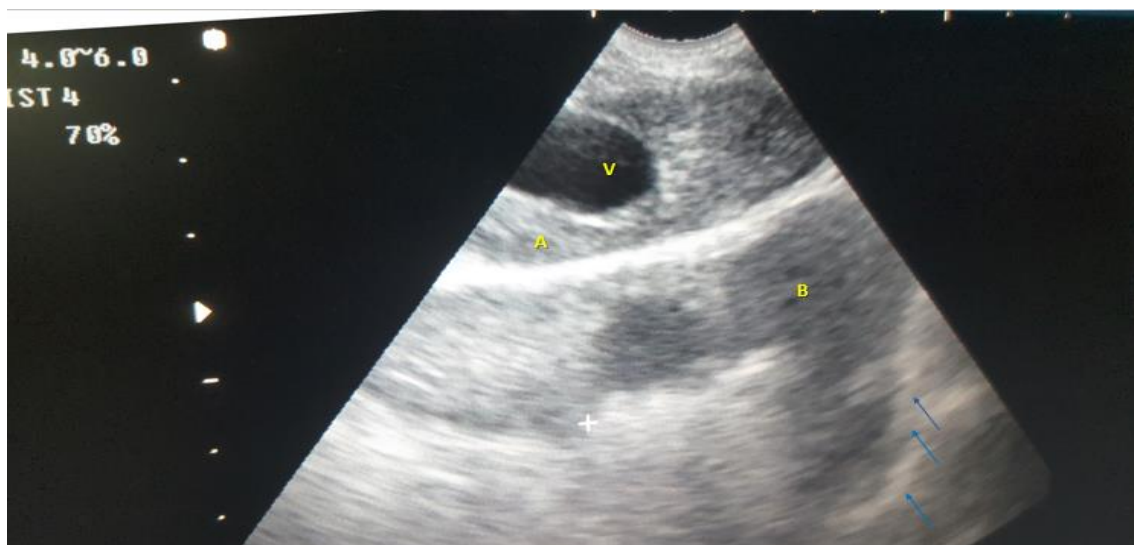


Figura 4. Canino de 10 años raza Samoyedo, en la fotografía se muestra el hígado en corte longitudinal, parénquima con densidad Mixta (A y B), las flechas señalan los bordes irregulares y el diafragma. La Vesícula biliar presenta contenido anecogénico.

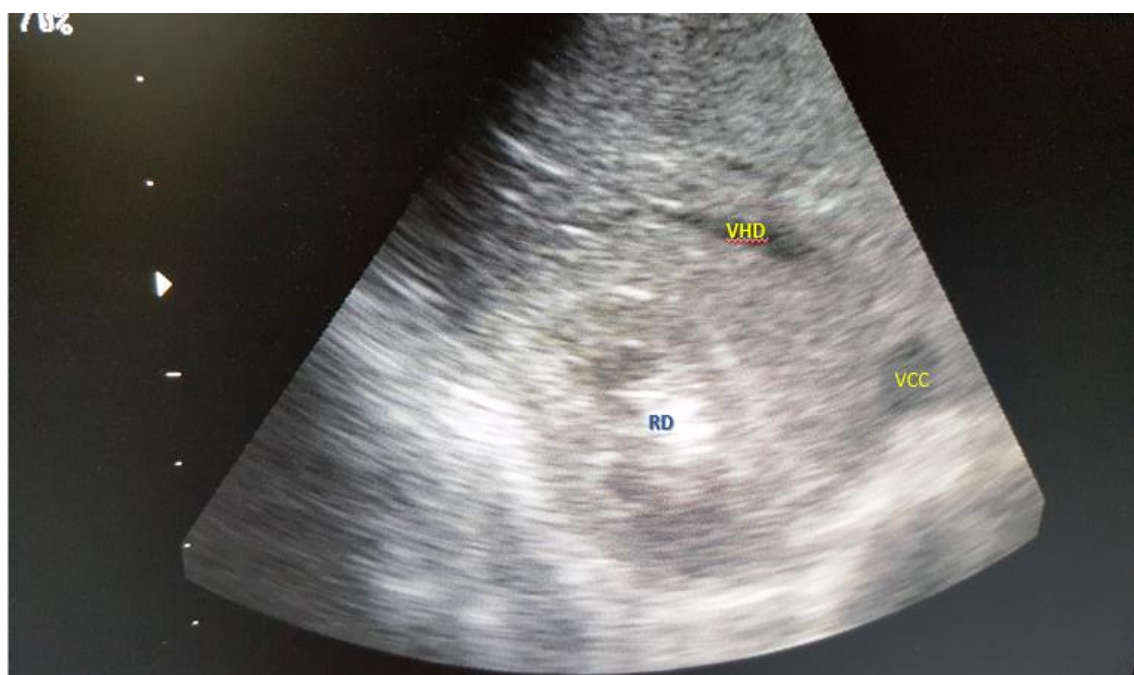


Figura 5. Canino de 9 años, raza Schnauzer miniatura sal y pimienta, en la imagen se aprecia el parénquima hepático que es similar a la corteza renal, los bordes son regulares, el parénquima es hipocogénico y es homogéneo, el tamaño hepático es normal, la Vena hepática derecha y la Vena Cava Caudal (VCC).



Figura 6. Paciente canino de 13 años, raza Cobrador dorado, corte longitudinal del hígado presenta sedimento en vesícula biliar (VB), el parénquima es homogéneo, ligeramente aumentado de densidad, los bordes son irregulares, el hígado esta agrandado.

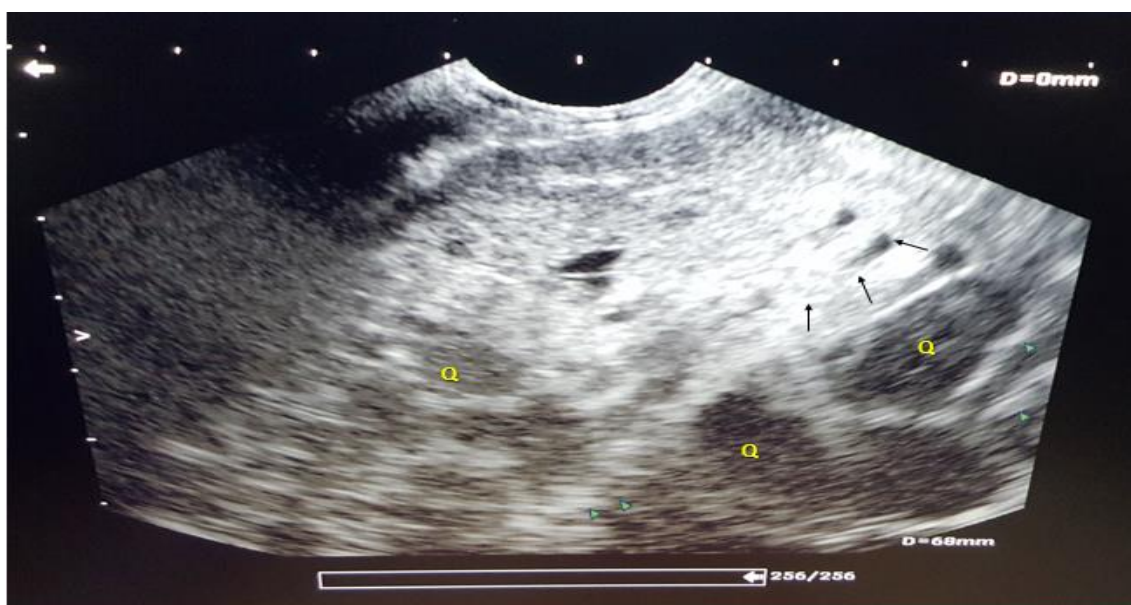


Figura 7. Paciente canino de raza Rottweiler de 7 años, en la ecografía abdominal se muestra el hígado con necrosis hepática (Flechas), presencia de quistes (Q) y refuerzo posterior cabezas de flechas.