

01672



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**"Estudio de pruebas de coagulación en vacas
lecheras y gatos con lipidosis hepática"**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

SALVADOR PADILLA ARELLANES

TUTOR: JAN BOUDA

COMITE TUTORAL: NORMA CALDERON APODACA

CARLOS A. VEGA Y MURGUIA

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El autor da su consentimiento al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal y a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM para que la tesis esté disponible para cualquier reproducción e intercambio bibliotecario.

DEDICATORIAS

A mis padres

Salvador Padilla Casillas

Guadalupe Arellanes de Padilla

A mis hermanos

Gloria Alicia, Francisco Javier, Jorge Antonio, Mario Alberto,

María Elena, José Alfredo, Arturo y Esperanza

A mis amigos

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jan Bouda, por su apoyo y respaldo para mi formación profesional.

A la Dra. Norma Calderón Apodaca, por sus consejos y orientación para la realización de la tesis.

Al Dr. Carlos A. Vega y Murguía, por su invaluable y desinteresado apoyo para la realización de la tesis.

Al Dr. Fernando Constantino Casas, por su ayuda en la evaluación histológica del tejido hepático y su invaluable apoyo para la culminación de la tesis.

Al Dr. Luis Núñez Ochoa, por sus recomendaciones como jurado en la revisión de la tesis.

A la QFB Rosalba Salcedo Elisea y QBP Delia Arlette Castillo Mata por su invaluable apoyo en la determinación de analitos bioquímicos.

A la técnico laboratorista Guadalupe Juárez Jimenez por su apoyo en los cortes histológicos de biopsias hepáticas.

Al Dr. Pedro Ochoa Galván, por su ayuda en el procesamiento estadístico de los resultados.

A las Dras. Rosa Luz Mondragón Vargas, Rosa María García Escamilla y Evangelina Romero Callejas por sus consejos e invaluable apoyo desinteresado para la culminación del trabajo de tesis.

A los Dres. Nuria de Buen, Beatriz Vanda, Luz María Rosales, Francisco Trigo y Germán Valero por sus consejos y apoyo en mi formación académica y profesional.

A los Dres. Teresita Torres, Diego Queijeiro y Francisco Olivares por su ayuda en la realización de las biopsias hepáticas en gatos.

A los doctores José Manuel Crisóstomo y Claudia Romero por su ayuda en la toma de muestras sanguíneas en rastro.

A los doctores Pilar Useche, Angélica Camacho y Cuauhtémoc García por su ayuda en el muestreo y procesamiento de muestras sanguíneas.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Summary.....	2
Abreviaturas.....	3
Introducción.....	4
Material y Métodos.....	21
Resultados.....	28
Discusión.....	33
Literatura citada.....	41
Cuadros y figuras.....	49

SALVADOR PADILLA ARELLANES. Estudio de pruebas de coagulación en vacas lecheras y gatos con lipidosis hepática. (Bajo la tutoría de Dr. Jan Bouda, Dra. Norma Calderón Apodaca, Dr. Carlos Agustín Vega y Murguía)

En las enfermedades hepáticas la síntesis de proteínas de la coagulación sanguínea puede ser disminuida y el tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial (TTP) pueden incrementarse, especialmente cuando se utilizan diluciones en plasma. El objetivo del trabajo fue comparar las pruebas de laboratorio de rutina con las pruebas de coagulación optimizadas para el diagnóstico temprano de insuficiencia hepática por lipidosis. En el primer estudio se utilizaron 20 vacas lecheras divididas en dos grupos, el grupo testigo (n=10) consistió de vacas sin signos clínicos de enfermedad y el grupo problema (n=10) de vacas con lipidosis hepática, se les tomaron muestras de sangre y de hígado. En el segundo estudio 6 gatos sanos después de 8 semanas de acondicionamiento con significativa ganancia de peso fueron divididos en dos grupos, el grupo testigo (n=2) fue alimentado a libre acceso y el grupo experimental (n=4) solo alimento seco en un 20% de la dieta de la fase de acondicionamiento. Durante 8 semanas se tomaron muestras sanguíneas semanalmente y se realizó biopsia hepática en la octava semana. En ambos estudios (vacas y gatos) y todos los grupos en las muestras sanguíneas se realizaron hemograma (15 analitos), perfil bioquímico hepático (12 analitos) y pruebas de coagulación (2 analitos), además de evaluación histológica y prueba de flotación en tejido hepático. En vacas se encontró diferencia significativa en el TP al 50% y 25% en ambos grupos ($p=0.004$ y $p=0.001$) respectivamente. Existió diferencia significativa en ácidos grasos libres (AGL), aspartato amino transferasa (AST), triglicéridos y fibrinógeno ($p=0.001$, $p=0.007$, $p=0.044$ y $p=0.0001$) respectivamente. En gatos se logró la inducción de lipidosis hepática. El TP al 50%, el TTP al 100% y los AGL se encontraron por arriba del valor de referencia a partir de la segunda semana en el grupo experimental, mientras la alanina amino transferasa (ALT) se incrementó a partir de la cuarta semana. Se concluye que los tiempos de coagulación están prolongados en animales con lipidosis hepática. El uso de pruebas de coagulación optimizadas detecta alteraciones que no se aprecian al utilizar el TP y TTP de manera convencional.

Palabras clave: coagulación, sangre, vacas, gatos, hígado, lipidosis.

SALVADOR PADILLA ARELLANES Study of coagulation tests in dairy cows and cats with hepatic lipidosis (Dr Jan Bouda, Dra Norma Calderón Apodaca, Dr Carlos Agustín Vega y Murguía)

The synthesis of coagulation proteins can be diminished in hepatic disease, therefore the prothrombine time (PT) and partial thromboplastine time (PTT) can be increased, especially when dilutions of plasma are used. The objective of this work was to compare the routine laboratory tests with optimized clotting tests for the early diagnosis of hepatic lipidosis. In the first study, 20 dairy cows were divided in two groups, the control group (n=10) consisted of cows without clinical signs of disease and the problem group of cows (n=10) with hepatic lipidosis. Blood samples and liver biopsy in animals of both groups were taken. In the second study, 6 healthy cats after 8 weeks of conditioning were divided in two groups. The control group (n=2) was fed *ad libitum* and the experimental group (n=4) was fed only by dry food, which was 20% of the conditioning diet. During 8 weeks, blood samples were taken weekly and hepatic biopsy was performed in the 8th week. In both studies (cows and cats) and all groups in the blood samples there were performed hemogram (15 analytes), hepatic biochemical profile (12 analytes) and clotting tests (2 analytes). Histological evaluation and flotation test were performed in hepatic tissue samples. In cows the significant difference was found in the PT to 50% and 25% between groups (p=0.004 and p=0.001, respectively). Significant difference was observed in values of free fatty acids (FFA), aspartate amino transferase, triglycerides and fibrinogen (p=0.001, p=0.007, p=0.044 and p=0.0001, respectively). In cats, hepatic lipidosis was induced. The values of PT to 50%, PTT to 100% and FFA were increased in comparison with initial values from the second week in the experimental group, while the alanine amino transferase was increased at the 4th week. We concluded the clotting times are prolonged in animals with hepatic lipidosis. The use of optimized clotting tests detect alterations, which can not be determined by conventional procedures for PT and PTT.

Key words: clotting, blood, cows, cats, liver, lipidosis

ABREVIATURAS

AGL: Ácidos grasos libres

ALT: Alanina amino transferasa

AST: Aspartato amino transferasa

BD: Bilirrubina directa

BI: Bilirrubina indirecta

BT: Bilirrubina total

CEPIPSA: Centro de enseñanza, práctica e investigación en producción y salud animal

CGMH: Concentración globular media de hemoglobina

CID: Coagulación intravascular diseminada

CK: Creatincinasa

CuSO₄: Sulfato de cobre

DMCZPG: Departamento de medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos

FA: Fosfatasa alcalina

FMVZ-UNAM: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México

fW: Factor de von Willebrand

GGT: Gamma glutamil transferasa

H-E: Hematoxilina eosina

Ht: Hematócrito

LAD: Lipoproteínas de alta densidad

LBD: Lipoproteínas de baja densidad

LHI: Lipidosis hepática idiopática

LMBD: Lipoproteínas de muy baja densidad

PP: Proteínas plasmáticas

ppp: Plasma pobre en plaquetas

PT: Proteínas totales

TCA: Tiempo de coagulación activado

TG: Triglicéridos

TIIM: Trombocitopenia inmunomediada

TP: Tiempo de protrombina

TT: Tiempo de trombina

TTP: Tiempo de tromboplastina parcial

VIIa: Factor VII activado

VGM: Volumen globular medio

ESTUDIO DE PRUEBAS DE COAGULACIÓN EN VACAS LECHERAS Y GATOS CON LIPIDOSIS HEPÁTICA

1. INTRODUCCIÓN

Existen gran cantidad de pruebas de laboratorio para evaluar la coagulación sanguínea, sin embargo los clínicos utilizan con mayor frecuencia el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial (TTP) debido a que son eficaces y relativamente baratas ¹

La mayoría de las proteínas que actúan en la cascada de la coagulación se sintetizan en el hígado, a excepción del factor VIII, por lo tanto, cuando llega a ocurrir daño hepático grave existe la posibilidad de que la síntesis de proteínas se vea disminuida ²

La determinación de la albumina es un buen indicador del funcionamiento hepático, debido a que se sintetiza únicamente en el hepatocito, sin embargo las proteínas de la coagulación tienen una vida media plasmática más corta que la albumina, por lo tanto pueden ser un indicador temprano de insuficiencia hepática ³

El TP y el TTP se mantienen dentro de los valores de referencia en la mayoría de los animales con enfermedad hepática, sin embargo, la sensibilidad de estas pruebas puede incrementarse cuando se utilizan diluciones de las muestras de plasma ^{4,5}

En las vacas lecheras altas productoras es común en las dos primeras semanas posparto encontrar un desbalance energético negativo, el cual favorece la remoción de lípidos a partir de tejido adiposo y posteriormente éste tiende a acumularse en los hepatocitos por varios mecanismos, desarrollándose la lipidosis hepática. Esta enfermedad es la causa más común de insuficiencia hepática en las vacas lecheras altas productoras ^{6,7}

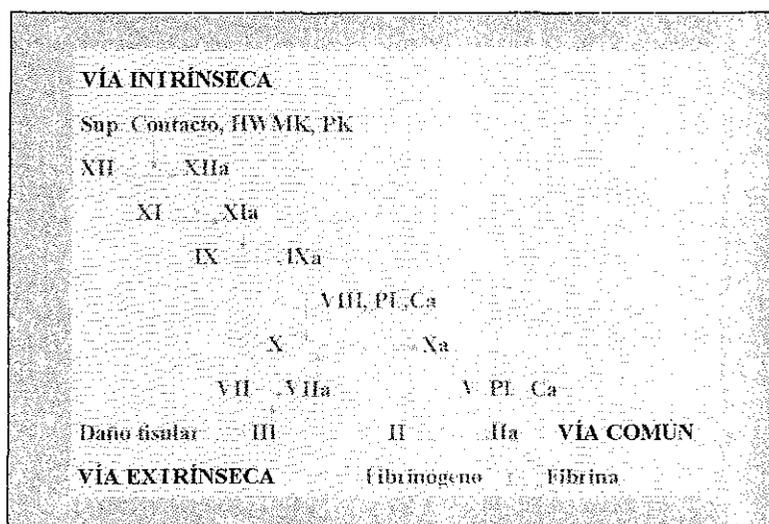
En el caso de los gatos, la lipidosis hepática es la enfermedad más común en el hígado, ésta se presenta la mayoría de las veces como un evento primario, sin embargo, puede ser secundaria a varias enfermedades que favorezcan anorexia e incremento en el metabolismo de lípidos ⁸⁻¹⁰

La determinación del TP y TTP optimizados pueden ayudar a detectar problemas de insuficiencia hepática en etapa inicial y así favorecer al diagnóstico más temprano, tratamiento oportuno y mejor pronóstico para los animales que sufran de lipidosis hepática

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Generalidades

El sistema hemostático esta dividido tradicionalmente en tres componentes mayores: hemostasia primaria, hemostasia secundaria y fibrinólisis^{11,12} La hemostasia primaria comprende la interacción entre las plaquetas circulantes y los vasos sanguíneos, mientras que la hemostasia secundaria hace referencia a la activación de la cascada de la coagulación sanguínea la cual favorece la formación de fibrina. La fibrinólisis comprende la lisis de un coágulo o trombo a través de la activación del plasminógeno a plasmina. Para entender mejor la cascada de la coagulación esta ha sido dividida convencionalmente en tres vías: intrínseca, extrínseca y común.^{11,12} El inicio de la vía intrínseca se debe al contacto entre una superficie vascular dañada, la cual causa la activación de los factores XII, XI, IX y VIII. El complejo del factor tisular y el factor VII provoca la activación de la vía extrínseca a través de la formación del factor VII activado (VIIa). La vía común incluye al fibrinógeno y los factores II, V y X. El complejo VIII/IX y el factor VIIa activan al factor X, iniciando la vía común.^{11,12} A continuación se muestra una representación esquemática simplificada de los componentes de la cascada de la coagulación y sus interacciones.



Esquema simplificado de la cascada de la coagulación sanguínea

Las anormalidades en cualquiera de estas vías pueden ser detectadas usando pruebas diagnósticas específicas. La hemostasia primaria puede ser evaluada determinando el número de plaquetas y realizando el tiempo de sangrado para evaluar la interacción plaqueta-vaso.^{13,14} La hemostasia secundaria puede ser evaluada por el tiempo de coagulación activado (TCA) o el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTP) para ver anormalidades en las vías intrínseca y común, el tiempo de protrombina (PT) para evaluar las vías extrínseca y común. El tiempo de trombina (TT) y la cuantificación del fibrinógeno para evaluar en el plasma la vía común.^{2,11} El incremento de productos de la degradación de la fibrina sugiere fibrinólisis sistémica activa.^{11,15}

El TTP como se mencionó mide la actividad de las vías intrínseca y común de la cascada de la coagulación. El resultado expresado en segundos, refleja el tiempo requerido para la formación de un coágulo de fibrina después de que un factor activador y calcio son adicionados al plasma citratado pobre en plaquetas del paciente. El resultado es comparado con el tiempo obtenido simultáneamente sobre un plasma control normal o una distribución de valores de referencia.^{16,17}

El PT evalúa la función de las vías extrínseca y común. En particular, esta prueba mide la actividad del factor VII, un factor dependiente de la vitamina K que es sintetizado en el hígado y con una vida media muy corta. Además el PT evidencia la capacidad de síntesis actual del hígado, la adecuada absorción de vitamina K y la inhibición de la síntesis de factores de la coagulación por warfarina o algunos otros anticoagulantes. El resultado, expresado en segundos y comparado como se mencionó en el TTP, refleja el tiempo requerido para que las redes de fibrina aparezcan después de la adición de tromboplastina tisular y calcio en el plasma citratado pobre en plaquetas del paciente.¹⁸

2.2. Anormalidades hemostáticas en el bovino

Las anormalidades en la hemostasia primaria en bovinos han sido raramente estudiadas. La furazolidona ha sido implicada en casos de supresión de médula ósea en el ganado bovino, causando trombocitopenia. También la trombocitopenia ha sido observada clínicamente en infecciones con cepas no citopáticas del virus de diarrea viral bovina, los

aspirados de médula ósea de algunos animales sugieren necrosis medular activa¹⁹ La intoxicación con helecho macho causa depresión de la médula ósea, provocando pancitopenia, la intoxicación se observa comúnmente después de cuatro a doce semanas de la ingestión.²⁰

Los problemas cualitativos de las plaquetas también han sido informados en los bovinos. La trombopatía hereditaria del ganado Simmental ha sido descrita en los Estados Unidos y Canadá. Las plaquetas de estos animales afectados no se agregaron cuando fueron estimuladas con ADP o colágeno, factor activador de plaquetas y trombina.²¹ El síndrome de Chediak-Higashi ha sido estudiado en varias razas de ganado bovino como la Hereford, Negra japonesa y Brangus. En este caso, las plaquetas producen menor cantidad de serotonina, ATP y ADP, lo cual impide la agregación plaquetaria.²² Una variante de la enfermedad de von Willebrand ha sido reconocida en un becerro Simmental.²³

Los defectos congénitos involucrando la hemostasia secundaria también han sido informados en el ganado bovino. La hemofilia A se conoce en ganado Hereford.²⁴ La deficiencia del factor XI ha sido identificada en ganado Holstein-Friesian, ambos sexos son susceptibles, pero es inusual el sangrado, el problema se ha descrito en los Estados Unidos, Canadá y Gran Bretaña.^{25,26}

Los bovinos pueden desarrollar diátesis hemorrágica por intoxicación con trébol dulce, la intoxicación es causada por el consumo de éste en forma de heno o ensilado conteniendo dicumarol. Ocasionalmente los bovinos tienen acceso a raticidas conteniendo warfarina u otra clase de cumarínicos, siendo la patogénesis similar a la intoxicación con trébol dulce.²⁷

Se menciona que la forma más común de disfunción hemostática en bovinos es la coagulación intravascular diseminada (CID), ésta ha sido asociada con enfermedades sépticas sistémicas como mastitis, metritis y neoplasias.²⁸

2.3. Anormalidades hemostáticas en el gato

Un número limitado de anormalidades de la coagulación sanguínea han sido informadas en los gatos. Las anormalidades de la hemostasia primaria son raras e incluyen el síndrome de Chediak-Higashi y la enfermedad de von Willebrand. La coagulopatía

congénita más comúnmente reconocida en los gatos es la deficiencia del factor XII (Hageman), el cual impide la activación del sistema intrínseco *in vitro*, provocando la prolongación del TTP. Sin embargo, la deficiencia del factor XII no provoca sangrado espontáneo.²⁹⁻³² Una deficiencia combinada de los factores IX y XII fue documentada en una familia de gatos siamés, en la cual los gatitos machos afectados tuvieron sangrado intermitente y cojeras.³³ La deficiencia en conjunto de los factores VIII y XII también ha sido descrita en gatos domésticos de pelo corto, de los gatitos machos afectados solo uno mostró sangrado espontáneo.³⁴

La hemofilia A o hemofilia clásica (deficiencia del factor VIII) está bien documentada en humanos, perros, caballos y también ha sido informada en gatos.^{35,36} La hemofilia B o enfermedad de Christmas (deficiencia del factor IX) ha sido descrita en dos gatos domésticos machos de pelo corto no relacionados familiarmente,³⁷ así como en una familia de gatos británicos de pelo corto.³⁸

Una familia de gatos Devon Rex con una coagulopatía multifactorial que respondió a la vitamina K fue descrita. Los gatos afectados tuvieron una moderada a marcada disminución de los factores II, VII, IX y X. Dos de estos gatos tuvieron evidencia clínica de sangrado espontáneo profundo.³⁹

Existen múltiples causas de anormalidades hemostáticas adquiridas, aunque muy pocas han sido reconocidas en los gatos. Defectos en la hemostasia primaria debida a causas vasculares no han sido bien documentadas, excepto en la vasculitis causada por el virus de la peritonitis infecciosa felina.⁴⁰ En contraste a perros, la trombocitopenia inmunomediada (TII) parece ser rara en gatos.^{41,42} Uno de dos gatos con TII desarrolló también anemia hemolítica inmunomediada después de un trasplante de médula ósea.⁴¹

Los problemas adquiridos de la hemostasia secundaria han sido estudiados en gatos. En contraste a perros, los gatos con mordedura de serpientes tienen mínimas prolongaciones en el TTP y el TP, además de que no sangran espontáneamente.⁴³ La inadecuada absorción de vitamina K en un gato con insuficiencia pancreática exocrina provocó la prolongación del TP y el TTP, los cuales se normalizaron después de la suplementación con enzimas pancreáticas en el alimento.⁴⁴ La deficiencia de vitamina K secundaria a warfarina u otros raticidas ha sido raramente descrita en gatos. De dos gatos

envenenados con warfarina, un gato presentó severo sangrado subcutáneo e intraabdominal y el otro fué presentado con persistente sangrado de una mordedura nasal ⁴⁵ Se ha demostrado que el fenobarbital disminuye las actividades de los factores II y VII de una manera relacionada a la dosis en los gatos, la administración de vitamina K a los gatos afectados solucionó esta coagulopatía. ⁴⁶

La CID, un problema hemostático mixto, ha sido descrita con poca frecuencia en los gatos. ^{47,48} Un informe describió 15 gatos con insuficiencia cardiaca congestiva secundaria a cardiomiopatía dilatada o hipertrófica y acompañada de tromboembolismo que cumplió con los criterios diagnósticos de CID. ⁴⁹

2.4. Importancia del hígado en los sistemas hemostáticos

El hígado es un órgano que frecuentemente sufre lesiones degenerativas o necróticas, sin embargo, las pruebas de funcionamiento generalmente se ven dentro de valores de referencia. El hígado juega un papel central en la síntesis de proteínas en donde se incluyen los sistemas de coagulación sanguínea y fibrinólisis. En él se sintetizan todas las proteínas de la coagulación con la excepción del factor VIII, por lo tanto, la síntesis de las proteínas de la coagulación puede estar comprometida en la enfermedad. ^{11,50,51} El hígado también sintetiza inhibidores de la coagulación como la antitrombina III, el plasminógeno que es el precursor de la plasmina, responsable de la degradación de los coágulos de fibrina y juega un papel esencial en la remoción de factores de la coagulación activos circulantes. ^{51,52} La producción hepática de los factores de la coagulación se dedujo a partir de observaciones de pacientes con severa enfermedad hepática, hepatectomía experimental en varios animales y estudios sobre preparaciones tisulares *in vitro*. La demostración de la producción de los factores de la coagulación por una línea celular en particular es facilitado por células en crecimiento en un medio de cultivo conteniendo ³⁵S-metionina. Las proteínas de nueva formación incorporan el aminoácido radiomarcado. Después de la lisis celular, se usan anticuerpos dirigidos contra un factor de la coagulación en particular para aislar la proteína, esta última es analizada por electroforesis. Este proceso separa las proteínas basándose en su masa molecular y permite la demostración de la proteína radiomarcada por autoradiografía. ⁵³

En caso de enfermedad hepática, la síntesis de algunas proteínas puede estar comprometida. La vida media de la mayoría de los factores de la coagulación es muy corta, 3 h a 3 días, por lo que en cualquier problema de disfunción hepática sus concentraciones plasmáticas se verán afectadas. Debido a que la mayoría de los factores se encuentran normalmente en exceso, la coagulación se ve impedida solo si existe un daño hepático severo. Además los niveles plasmáticos de los factores de la coagulación disminuyen acorde con su vida media. El factor VII tiene una vida media muy corta, aproximadamente 3 a 4 h, se calcula que de 24 a 28 h después del cese en la síntesis de este factor el sangrado puede ocurrir,^{54,55} el factor IX tiene una vida media aproximada de 24 h pero disminuye a niveles subhemostáticos hasta después de 3 a 4 días.^{54,56} Los factores II y X tienen vidas medias en el rango de 2 a 3 días, y las severas deficiencias se desarrollan después de 5 a 10 días al cese de su síntesis.⁵⁴ La determinación de la albúmina es un buen indicador de funcionamiento hepático, ya que ésta se sintetiza únicamente en el hepatocito y su vida media plasmática es de aproximadamente 7 a 10 días.³ Debido a que las proteínas de la coagulación tienen una vida media más corta que la albúmina, el TP puede ser un indicador más temprano de insuficiencia hepática que la determinación de la albúmina. En un estudio se observó que la determinación del TP y el TTP mostraron una buena correlación con alteraciones en la concentración de albúmina plasmática.⁵⁷ La obstrucción prolongada del ducto biliar puede provocar mala absorción de grasa y deficiencia de vitaminas liposolubles. La deficiencia de vitamina K causa disminución de la activación de los factores II, VII, IX y X ya que impide su carboxilación.⁵ Algunas enfermedades hepáticas también están asociadas con defectos en la función plaquetaria. Pacientes humanos y perros domésticos que tienen enfermedad hepática tienen disminución en la habilidad para agregar plaquetas en respuesta a ciertos agonistas.⁵⁸ Defectos plaquetarios cualitativos son vistos en enfermedad colestática debido a un incremento en la producción o una disminución en la eliminación de productos de la degradación de la fibrina que se producen en CID, y puede ayudar a explicar una coagulopatía en un paciente que tiene pruebas de coagulación normales y número adecuado de plaquetas.⁵⁹ En la mayoría de los casos de enfermedad hepática, la hemorragia espontánea no ocurre, pero la tendencia a hemorragia se ve incrementada.^{4,5,58,60,61} Puede llegar a ocurrir sangrado prolongado en sitios de

venopunción, excesivo sangrado después de la cateterización endovenosa o procedimientos de biopsia, sangrado gastrointestinal debido a gastritis o úlceras (melena y hematemesis) y sufusiones asociadas a traumatismos menores

La predisposición al sangrado y anormalidades en las pruebas de coagulación son inusuales en animales que tienen ligera a moderada enfermedad hepática por varias razones:

1. El hígado produce grandes cantidades de factores de la coagulación y es eficiente en desnaturalizar anticoagulantes circulantes ⁶²
2. Debe haber pérdida de más del 70% de la masa hepática funcional para que se produzca disminución significativa en la producción de los factores de la coagulación, y aún con esta severa pérdida de parénquima hepático, el sangrado no es observado. ⁶³ El hígado es rápido y eficiente en regenerar hepatocitos después de degeneración o necrosis hepatocelular
3. La enfermedad hepática también puede causar un incremento en la producción de algunos factores de la coagulación incluyendo el fibrinógeno en la enfermedad inflamatoria en bovinos y equinos, los factores I y V en humanos y perros con ictericia obstructiva y factor de von Willebrand (fvW) en hepatitis canina y necrosis hepatocelular en humanos. ^{5,64} Esto puede enmascarar la predisposición al sangrado o a un evento trombótico

El hígado tiene limitadas vías para responder a lesiones y la respuesta hepática específica dicta el tipo de coagulopatía que es observada clínicamente. Se piensa que la especialización del hepatocito esta basada en su localización dentro del lóbulo hepático, y las proteínas producidas en la zona 1 ricamente oxigenada (periportal) incluye muchas enzimas metabólicas, proteínas estructurales y proteínas de la coagulación, mientras que las proteínas producidas en la zona 3 pobremente oxigenada (centrolobular) son diferentes cualitativa y cuantitativamente. Por lo tanto, una lesión inflamatoria o infiltrativa puede provocar un tipo específico de trastorno de la coagulación. ⁶⁵

La disminución de ciertos factores es asociada con hepatopatías específicas: en perros domésticos se produce disminución de los niveles plasmáticos del factor VIII en caso de neoplasias hepáticas, los factores VII y X tienden a disminuir en neoplasias

hepáticas en humanos y amiloidosis primaria, los factores IX y X disminuyen en perros que tienen enfermedad hepática. Baja concentración de fibrinógeno en ausencia de CID da un pronóstico desfavorable en pacientes con enfermedad hepática ⁶⁵

Si se desarrolla la CID la prolongación del TP y el TTP sin diluir es común, como también la trombocitopenia, hipofibrinogenemia y el incremento de productos de la degradación de la fibrina. La prolongada obstrucción biliar puede provocar deficiencia de vitamina K y prolongación del TP y TTP. ⁶⁶⁻⁶⁸

2.5. Fisiopatología de la lipidosis hepática

La lipidosis o esteatosis son los términos utilizados para indicar la acumulación de gotas discretas de triglicéridos dentro del citoplasma de las células parenquimales. La lipidosis ocurre con más frecuencia en hígado, riñón y corazón, la cual puede ser causada por muchos disturbios en la síntesis normal y transporte de grasas

2.5.1 Transporte de lípidos en el organismo

Las grasas son transportadas normalmente hacia los hepatocitos bajo la forma de ácidos grasos libres (AGL) provenientes de los triglicéridos conservados en los lipocitos o adipocitos del tejido adiposo y de los ácidos grasos de cadena corta hidrosolubles que entran a la circulación portal directamente del intestino. Los triglicéridos absorbidos del intestino están en forma de quilomicrones, éstos entran a la circulación sistémica vía intestinal y ductos torácicos mucho más que la circulación portal. Los quilomicrones son partículas esféricas compuestas de una parte interna de triglicéridos rodeados por una capa de fosfolípidos, colesterol y apolipoproteínas. Estos son convertidos a AGL en los capilares del músculo esquelético y cardíaco, también en tejido adiposo por la enzima lipoproteína lipasa endotelial, los AGL son utilizados por estos tejidos, al igual que el hígado como fuentes primarias de energía. En el hígado, todos los ácidos grasos son oxidados directamente para producir energía o son esterificados a triglicéridos. Normalmente, la mayoría de los triglicéridos hepáticos están acompañados por moléculas de apoproteínas específicas sintetizadas por el hígado para formar lipoproteínas. Estas lipoproteínas, por ejemplo, lipoproteínas de baja densidad (LBD), lipoproteínas de muy baja densidad

(LMBD) y lipoproteínas de alta densidad (LAD), son secretadas hacia la circulación sanguínea y usadas como fuentes energéticas por otros tejidos ⁶⁹⁻⁷¹

2.5.2. Causas de lipidosis hepática

La lipidosis es debida al transporte de lípidos a células afectadas en cantidades que exceden su capacidad para metabolizarlos o por la incapacidad de la célula para sintetizar proteínas y lipoproteínas requeridas para el transporte de niveles fisiológicos de lípidos fuera de las células afectadas. Algunos de los mecanismos básicos involucrados en la patogénesis de la lipidosis son los siguientes:

1. La excesiva liberación de AGL del tejido adiposo provoca un incremento en la llegada de éstos al hígado, corazón o riñón, donde ellos no pueden ser rápidamente utilizados y por lo tanto, se acumulan en forma de triglicéridos. Éste es el mecanismo involucrado en la lipidosis del ayuno prolongado o restricción calórica severa, en los cuales los AGL son movilizados de las reservas de grasa corporales y transportados al hígado para la síntesis de glucosa (gluconeogénesis) como fuente de energía. Esta forma ocurre frecuentemente en gatos con lipidosis hepática idiopática ^{70 71}
2. La disminución en la utilización u oxidación de ácidos grasos puede interferir con algunos cofactores como carnitina, la cual es esencial para la oxidación de ácidos grasos de cadena larga. Las toxinas bacterianas (ej. toxina de difteria) producen cambio de grasa de esta manera en seres humanos ⁷¹
3. La deficiencia de lipotropos disminuye la síntesis de fosfolípidos. La deficiencia de metionina o colina disminuye la síntesis de fosfolípidos y favorece la esterificación de diglicéridos a triglicéridos ⁷¹
4. Los ácidos grasos preferencialmente esterificados a triglicéridos se producen por un incremento en los niveles de α glicerofosfato. Éste es uno de los mecanismos involucrados en el cambio de grasa que se produce con excesivo consumo de alcohol ⁷¹
5. La síntesis inapropiada de apoproteína interfiere con la habilidad del hepatocito para sintetizar lipoproteínas, la forma en la cual los triglicéridos son excretados del hígado. Una gran variedad de tóxicos, incluyendo la etionina, tetracloruro de carbono, puromicina y fósforo amarillo dañan el retículo endoplasmico rugoso e interfieren con

la síntesis de proteínas. La deficiencia de proteína también puede provocar cambio de grasa debido a la disminución de aminoácidos requeridos para la síntesis de proteínas.^{65,70,71}

6. Los problemas en la secreción de lipoproteínas por parte del hígado también producen acumulación de triglicéridos en los hepatocitos. Este mecanismo está involucrado en la intoxicación experimental con ácido orótico.⁶⁵

2.6. Lipidosis hepática en vacas lecheras

En la vaca lechera alta productora, la lipidosis hepática puede deberse a un desequilibrio energético negativo en las dos primeras semanas posparto y a problemas en la fermentación ruminal, intoxicaciones, infecciones por virus, bacterias y parásitos. Las vacas con un desequilibrio energético negativo movilizan reservas de grasa periférica y desarrollan la lipidosis hepática rápidamente debido a que el hígado del bovino tiene una pobre capacidad para exportar el exceso de lípidos en lipoproteínas.^{6,72} La lipidosis hepática es la causa más frecuente de insuficiencia hepática en las vacas lecheras altas productoras.³⁵ Aunque se ha demostrado que las gotas de grasa se pueden observar en todas las vacas lecheras al principio del posparto, es claro que los signos clínicos se asocian a una considerable acumulación de grasa en los hepatocitos,^{71,73} y que puede llegar a producir una disfunción de éstos.^{74,75}

El hígado graso ocurre cuando la tasa de síntesis de triglicéridos (TG) excede a la capacidad de hidrólisis y la exportación hepática de los mismos en forma de lipoproteínas de muy baja densidad. La tasa de síntesis de TG (esterificación) es proporcional a la concentración plasmática de ácidos grasos libres, que a su vez resultan de la movilización paralela a partir del tejido adiposo. La concentración plasmática de ácidos grasos libres se incrementa antes y durante el parto, resultando en la elevada captación de ácidos grasos por el hígado, esterificación de ácidos grasos y almacén de triglicéridos.⁷³

2.6.1 Diagnóstico

Las actividades séricas de enzimas hepatocelulares no son indicadores sensibles de lipidosis hepática, sin embargo de las enzimas comúnmente medidas en suero, la aspartato amino transferasa (AST) ha sido la única que se ha correlacionado mejor con lipidosis

hepática La AST ha sido seleccionada para su uso en algunos programas diseñados para monitorear gatos con ocurrencia de lipidosis hepática.⁷⁶

El analito sérico mayormente correlacionado con lipidosis hepática en el ganado bovino son los ácidos grasos libres (AGL), los cuales se ven incrementados cuando se produce una acelerada liberación de estos a nivel de tejido adiposo. La concentración de colesterol sérico parece variar de manera inversamente proporcional a la concentración de grasa en el hígado. El colesterol en el suero es un componente de las lipoproteínas, y la correlación entre hígado graso y reducción en colesterol sérico es un indicador de baja concentración de lipoproteínas séricas y puede reflejar reducción en la secreción de lipoproteínas.^{76,77}

A la necropsia el hígado puede mostrar hepatomegalia marcada con bordes redondeados, color pálido amarillento y consistencia friable como resultado de la gran deposición de grasa (más del 15% de su peso fresco). Las alteraciones encontradas pueden ser comprobadas histologicamente por la observación de gotas de lípidos en los hepatocitos. La extensión en la infiltración grasa puede llegar hasta el 70% del volumen total del hepatocito.^{73,78}

La mejor manera de confirmar la infiltración grasa es mediante la biopsia hepática percutánea y tiñiendo el espécimen con hematoxilina-eosina y sudán para corroborar la grasa. Sin embargo, existe otro método de utilidad en condiciones de campo basado en determinar el grado de acumulación grasa en el hígado. Se evalúa mediante la flotación de la muestra en soluciones de agua destilada y soluciones de sulfato de cobre con diferentes densidades.⁷³

2.7. Lipidosis hepática en gatos

La lipidosis hepática es la enfermedad del hígado más comúnmente reconocida en gatos.⁸ Se caracteriza por que le precede un período prolongado de anorexia, que provoca la acumulación masiva de grasa, colestasis intrahepática severa, insuficiencia hepática y alta mortalidad si el gato no es tratado. Acontece en gatos de todas las edades pero es más común entre 2 y 8 años. Se ha descrito principalmente en hembras y es más frecuente después de un período de anorexia de 1 a 2 semanas.^{8-10,60,79,80} Los gatos obesos tienen

cierta predisposición.^{9, 79-81} En algunos gatos, cualquier problema primario que cause anorexia o estrés puede ser el origen; en otros, la condición es idiopática. La infiltración grasa de los hepatocitos es un hallazgo histológico inespecífico y ocurre por la reducción en el consumo de alimento, con una variedad de enfermedades metabólicas, en obesidad, con ingestión de productos tóxicos y otros tipos de problemas hepáticos.^{9, 82-83}

La lipidosis hepática en gatos puede ocurrir como un evento primario conocido como lipidosis hepática idiopática (LHI) o secundaria a otro proceso enfermedad. La lipidosis hepática secundaria puede darse en conjunto con enfermedades que alteran el metabolismo de lípidos en el hepatocito, como son la diabetes mellitus.⁸⁴⁻⁸⁶ La lipidosis hepática secundaria también ha sido identificada en gatos con colangiohepatitis,⁶⁰ obstrucción extrahepática del ducto biliar y colangiohepatitis supurativa, así como en otras enfermedades involucrando otros órganos o sistemas, incluyendo varios tipos de neoplasias, enfermedad renal, hipertiroidismo, hiperparatiroidismo, pancreatitis y enfermedades del intestino delgado.^{9,60} La anorexia prolongada presumiblemente juega un papel muy importante en muchos casos de lipidosis hepática secundaria.

Los hallazgos clínicos en gatos con LHI varían con relación a la severidad y duración de la enfermedad. En etapas tempranas, los gatos pueden presentar pérdida de masa muscular, deshidratación, ptialismo y vómito. Como la función hepática empeora, se desarrolla un severo desgaste muscular, ictericia y signos de hepatoencefalopatía (severa depresión y convulsiones). La ictericia puede ser vista al principio en el paladar blando, seguida por la esclerótica, membranas mucosas y piel. La hepatomegalia es un hallazgo inconsistente en gatos con LHI.⁸⁶

2.7.1 Diagnóstico

Las anomalías más consistentes en el perfil bioquímico son un incremento de las enzimas hepáticas alanina amino transferasa (ALT), AST y fosfatasa alcalina (FA), así como hiperbilirrubinemia conjugada. El incremento de FA es más consistente y de mayor magnitud que la gamma glutamil transferasa (GGT). La hipoalbuminemia, hipercolesterolemia, disminución de urea, hipocaliemia e hiperglucemia se encuentran ocasionalmente.^{60,80}

Un diagnóstico definitivo de lipidosis hepática requiere la confirmación citológica o histológica. A la evaluación citológica se encuentran los hepatocitos severamente distendidos con vacuolas conteniendo lípidos. En la evaluación histológica de biopsias hepáticas estas tienden a flotar en formalina, los hepatocitos conteniendo vacuolas se encuentran en un patrón difuso o focal, aunque la distribución difusa estuvo presente en un 74% de gatos en un estudio ^{9, 81}

En un estudio de gatos con lipidosis hepática, el 45% presentó al menos un resultado anormal en pruebas de coagulación, aunque pocos gatos tuvieron evidencia clínica de un problema de sangrado ⁶⁰

2.8. Antecedentes

El factor VII de la vía extrínseca de la coagulación se ve particularmente comprometido porque se encuentra en muy pequeña cantidad y su vida media es de aproximadamente 3-4 horas, por lo tanto, una disminución en la síntesis hepática afecta primero a este factor y al IP. ^{11,28,61,73}

Menos del 2% de los animales con hepatopatías tienen tendencias de sangrado. La enfermedad hepática causa con poca frecuencia tendencia a hemorragias, la frecuencia de anomalías en los resultados de las pruebas de coagulación puede ser tan alta como 66% en perros y hasta 85% en humanos ⁶⁶

Generalmente no se observan hemorragias ni valores anormales en las pruebas de coagulación hasta que disminuye la concentración o actividad de los factores menos del 30% de su valor normal ⁶⁶

El IP y el TTP se mantienen dentro de los valores de referencia en la mayoría de los animales con enfermedad hepática ⁴ La sensibilidad del IP y del TTP puede incrementarse diluyendo el plasma, lo cual frecuentemente resulta en prolongación de los tiempos. ⁴ En otras investigaciones en donde se ha empleado el IP y el TTP optimizados con diluciones del plasma al 100, 50, 25 y 12.5% se observó que fueron indicadores sensibles de enfermedad hepática en perros. Solamente el 15% de estos perros mostraron variaciones en cuanto a los valores de referencia de estas pruebas en muestras de plasma sin diluir, y el 66% mostraron variaciones al realizarse las pruebas optimizadas ⁴ Sin embargo, en un

estudio realizado en Alemania utilizando el TTP optimizado hubo una disminución en la sensibilidad para diagnosticar deficiencia de factores de la coagulación en diferentes patologías felinas incluyendo algunas hepatopatías como la lipidosis hepática.⁵⁹

2.9. Justificación

La determinación de las pruebas de coagulación sanguínea pueden ser de gran utilidad como herramienta para el diagnóstico temprano de insuficiencia hepática porque los factores de la coagulación tienen una vida media muy corta en comparación a la determinación de otros analitos como la albúmina; además se requiere de mejores métodos para el diagnóstico de lipidosis y disfunción hepática de manera precoz, menos invasivos que la biopsia, que no afecte la producción, de fácil realización, repetible y de menor costo que la biopsia y el ultrasonido. La lipidosis hepática severa compromete el funcionamiento hepático y su capacidad de síntesis de proteínas, además es una enfermedad que causa alta mortalidad en el gato si no es diagnosticada y tratada correctamente, mientras que en las vacas lecheras se sabe que la lipidosis hepática causada principalmente por deficiencia de energía, lipomobilización y por trastornos metabólicos disminuye considerablemente la producción de leche, interfiere con la actividad reproductiva y disminuye la respuesta inmune, lo cual produce finalmente su muerte o la necesidad de ser enviadas a sacrificio.

2.10. Hipótesis

- La determinación del tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina optimizados pueden detectar insuficiencia hepática en fase temprana o inicial
- En animales con lipidosis hepática se produce un incremento en el tiempo de protrombina y el tiempo parcial de tromboplastina optimizados con respecto a los valores en animales sanos

2.11. Objetivos generales

- Determinar los valores del tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial en vacas lecheras y gatos sanos y en ambas especies con lipidosis hepática
- Determinar los valores del tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial optimizados en vacas lecheras y gatos sanos y en ambas especies con lipidosis hepática

2.12. Objetivos específicos

- 1 Comparar la sensibilidad de las pruebas de laboratorio de rutina y el tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial optimizados para el diagnóstico temprano de insuficiencia hepática por lipidosis
- 2 Relacionar los resultados de laboratorio con el grado de lipidosis hepática por medio de la evaluación histológica
- 3 Relacionar los resultados de laboratorio con el grado de lipidosis hepática por medio de prueba de flotación con sulfato de cobre

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos planteados, la investigación se dividió en dos estudios

3.1. Estudio en vacas lecheras

3.1.1. Animales y muestreo

Se utilizaron 20 vacas lecheras de la raza Holstein-Friesian, posparto divididas en dos grupos. El grupo testigo (n=10) consistió de vacas sin signos clínicos de enfermedad de acuerdo a un examen físico general, el cual incluyó la frecuencia respiratoria y frecuencia cardíaca por auscultación y temperatura rectal con termómetro. Teniendo una condición corporal en promedio de 3.2 (2.8 – 3.5), tomando en cuenta la escala de 1-5 descrita por Herdt (1988) ¹⁶ Este grupo fue seleccionado basándose en la prueba de flotación de tejido hepático en soluciones de diferentes densidades ¹⁶ Las vacas de este grupo fueron muestreadas en las instalaciones del Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM) (n=6), en un rancho en el estado de Querétaro (n=2) y en un rancho del estado de México (n=2)

El grupo problema (n=10) consistió de vacas con lipidosis hepática seleccionadas con base en el examen físico y condición corporal, la cual fue en promedio de 2.2 (1.8 – 2.5) y por prueba de flotación de tejido hepático en soluciones de diferentes densidades. Las vacas del grupo experimental provenían de diferentes ranchos del estado de Querétaro y el estado de México (n=8), las cuales fueron muestreadas en el rastro municipal de Tlalnepantla, estado de México, las restantes fueron muestreadas en un rancho del estado de Querétaro (n=2)

Las vacas en ambos grupos fueron manejadas en mangas apropiadas y se les tomaron muestras de sangre a partir de la vena coccígea, en tubos de vidrio con vacío y sal tripotásica de ácido etilendiaminotetracético (Vacutainer ®) para realizar un hemograma completo y en tubos de vidrio con vacío sin anticoagulante (Vacutainer ®) para obtener suero. Para la determinación de un perfil bioquímico hepático el suero se separó en las primeras dos horas por medio de centrifugación a 1000 g durante 10 min. Para la

determinación de las pruebas de coagulación se tomaron 4.5 mL de sangre en tubos de vidrio con vacío conteniendo citrato de sodio al 3.8% (Vacutainer ®) y se procedió a la separación del plasma pobre en plaquetas (ppp) en las primeras dos horas por medio de centrifugación a 800 g durante 15 min

A las vacas pertenecientes a los ranchos antes mencionados, se procedió a realizarles después del muestreo de sangre una biopsia hepática previa asepsia, a la altura del onceavo espacio intercostal del lado derecho, 20 cm por debajo de la espina dorsal y dirigiendo la aguja hacia las extremidades anteriores. En las vacas pertenecientes al rastro municipal de Tlalnepantla se procedió a tomar una porción del hígado de aproximadamente 1 cm³ después del sacrificio. Las muestras de tejido hepático se utilizaron para las pruebas de flotación y examen histológico.

3.2. Estudio en gatos

3.2.1 Animales y muestreo

Se obtuvieron 6 gatos por donación (4 machos y 2 hembras), de 2 a 8 años de edad, raza mexicano doméstico, con calendario de desparasitación y vacunación al corriente para inducir experimentalmente lipidosis hepática. Los gatos se alojaron en jaulas individuales en el Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia en Perros y Gatos de la FMVZ-UNAM, a una temperatura ambiente de 20 ± 5 °C. En la primera etapa (acondicionamiento) se les realizó un examen físico general, así como el muestreo sanguíneo a partir de vena yugular (5 mL), previa sedación con Tiletamina-zolazepam (0.5 mg/kg de peso) para la realización de hemograma completo, perfil bioquímico y pruebas de coagulación para comprobar que se encontraban clínicamente sanos y no sufrían de enfermedades subclínicas. El peso promedio fue de 4,400g (3,100 a 5,000). Se les mantuvo durante 2 meses en una dieta a libre acceso la cual consistió de alimento húmedo* y alimento seco*, así como agua a libre acceso. La finalidad de esta primera etapa fue que los gatos aumentaran de peso y si fuese posible sobrepeso.

En la segunda etapa (inducción de lipidosis hepática) se procedió a pesar a los gatos y registrar la ganancia de peso adquirida. Se realizó un examen físico general y se les

realizó hemograma completo y un perfil bioquímico completo para comprobar que continuaban clínicamente sanos. Los gatos se dividieron en dos grupos

* Friskies Petcare Company, Glendale, CA, USA

El grupo experimental consistió de 4 gatos (2 machos y 2 hembras) y se les mantuvo en las mismas condiciones ambientales que en la primera etapa. Se les proporcionó únicamente alimento seco en un 20% de la dieta que estaban acostumbrados a comer y agua a libre acceso con el objetivo de desarrollar lipidosis hepática secundaria a la restricción alimenticia.

El grupo testigo consistió de dos gatos (una hembra y un macho), los cuales fueron mantenidos con la misma dieta que en la primera etapa y agua a libre acceso. En ambos grupos de gatos se realizaron muestreos y análisis de sangre a las 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 8 semanas.

Las muestras de sangre (5 mL) fueron tomadas a partir de la vena yugular, en tubos de vidrio con vacío y sal tripotásica de ácido etilendiaminotetracético (Vacutainer®), en tubos de vidrio con vacío sin anticoagulante (Vacutainer®) y en tubos de vidrio con vacío conteniendo como anticoagulante citrato de sodio al 3.8% (Vacutainer®). En las muestras de sangre se realizaron hemograma completo, perfil bioquímico hepático y pruebas de coagulación.

Al finalizar la segunda etapa se procedió a tomar una biopsia hepática de 1 cm³ del lóbulo craneal derecho del hígado⁹ para la prueba de flotación y el examen histológico.

3.3 Análisis de muestras

3.3.1. Pruebas de coagulación sanguínea

En las vacas lecheras las pruebas de coagulación se realizaron en las primeras 6 horas de la toma de la muestra y se determinaron el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial (TTP) en plasma total (100%) y dos diluciones subsecuentes utilizando una solución de NaCl estéril al 0.9% (SI). En la primera dilución (1:1) se utilizaron 200 µL del plasma pobre en plaquetas (ppp) y 200 µL de la SI para conseguir la concentración de los factores de la coagulación al 50% con respecto al plasma total, en

la segunda dilución (1:3) se utilizaron 100 µL de ppp y 300 µL de la SI para conseguir la concentración de los factores de la coagulación al 25% con respecto al plasma total.⁵⁴ La determinación de las pruebas de coagulación se realizó en un equipo semiautomatizado (Thrombotimer-1, Organon Teknika ®, Germany).

Para la determinación del TP se utilizaron las muestras de plasma sin dilución y con las diluciones mencionadas usando un reactivo comercial (tromboplastina cerebral de conejo) y las instrucciones de la compañía proveedora. El mismo número de lote del reactivo fue utilizado durante todo el estudio. La reacción fue iniciada adicionando 200 µL del reactivo comercial precalentado (37 °C) a 100 µL del plasma, el cual había sido incubado durante 1 min a 37 °C.

Para la determinación del TTP se utilizaron las muestras de plasma sin dilución y con las diluciones mencionadas usando un reactivo comercial (Thrombofax activado) y las instrucciones de la compañía proveedora. El mismo número de lote del reactivo fue utilizado durante todo el estudio. Un volumen de 100 µL de plasma y 100 µL del activador fueron mezclados e incubados por dos minutos a 37 °C. Para iniciar la reacción se utilizaron 100 µL de cloruro de calcio (0.2 M) previamente incubado a 37 °C.

En el caso de los gatos las determinaciones de TP y TTP fueron realizadas de la misma manera descrita en el estudio de las vacas lecheras.

3.3.2. Bioquímica sanguínea

En las vacas lecheras el perfil bioquímico incluyó el análisis de AGL, AST, colesterol total, GGT, albúmina, urea, bilirrubina total (BT), bilirrubina directa (BD), bilirrubina indirecta (BI), TG y creatin-cinasa (CK) por medio de espectrofotometría (Cobas-Mira, Roche ®, Switzerland) y con una incubación a 37 °C. Estas determinaciones se hicieron en las primeras ocho horas de la toma de la muestra a excepción de los AGL, los cuales fueron mantenidos máximo 3 meses en congelación a -20 °C hasta su determinación.

En el caso de los gatos se realizaron las siguientes determinaciones: glucosa, urea, ALT, AST, FA, colesterol total, PT, albúmina, BT, BD, BI, TG y AGL.

3.3.3. Hemograma

El hemograma completo se realizó en las vacas lecheras por un método automatizado (Cell Dyn 3500R, Abbott Laboratories ®) y se determinó la cantidad de hemoglobina, el conteo total de leucocitos y plaquetas, por el método manual⁷³ se determinó el hematocrito (Ht), proteínas plasmáticas (PP), fibrinógeno, conteo de eritrocitos, cálculo del volumen globular medio (VGM) y la concentración globular media de hemoglobina (CGMH), así como el conteo diferencial de leucocitos a partir de un frotis sanguíneo coloreado con la tinción de Wright

En el caso de los gatos se realizó el hemograma completo, sin la determinación del fibrinógeno La estimación plaquetaria fue realizada a partir del frotis sanguíneo

3.3.4. Exámenes a las muestras de hígado

Cada una de las muestras hepáticas fue fraccionada en 4 partes Tres fracciones de la muestra hepática se utilizaron para la prueba de flotación, cada una de estas fueron colocadas en dos soluciones de sulfato de cobre (densidades 1.055 y 1.025) y otra en agua destilada (densidad 1.000) ⁷³ La interpretación de la prueba de flotación se hizo de acuerdo a la presencia de sedimentación o flotación de las fracciones en cada una de las tres soluciones y de acuerdo a los criterios descritos en el cuadro 1

Cuadro 1 Interpretación de la lipidosis hepática por medio de la prueba de flotación de tejido hepático en soluciones de sulfato de cobre (CuSO₄) a diferentes densidades y agua destilada

Grado de lipidosis hepática	Grasa (%) hepática	Agua destilada Densidad 1.000	Solución de CuSO ₄	
			Densidad 1.025	Densidad 1.055
Normal	< 13 %	-	-	-
Ligera	13- 25%	-	-	+
Moderada	25 – 34%	-	+	+
Severa	> 34%	+	+	+

- sedimentación, + flotación

La cuarta parte de la muestra hepática fue colocada en un frasco conteniendo formalina al 10% a un pH 7.4 para la evaluación histológica y se le realizaron cortes, los cuales fueron coloreados con la técnica de hematoxilina-eosina (H-E) y sudán para la confirmación de ausencia o presencia de lipidosis hepática. En las laminillas coloreadas con H-E se revisaron 5 campos con microscopio óptico a 400X, revisando de la zona centrolobulillar hacia las zonas periportales, evaluando en porcentaje a los hepatocitos afectados y confirmando en cada una de ellas la presencia de lípidos con las respectivas laminillas coloreadas con sudán. La clasificación de lipidosis hepática de acuerdo a la evaluación histológica se realizó haciendo ligeras modificaciones a los criterios descritos por Biourge *et al.* (1993) (Cuadro 2)

Cuadro 2. Clasificación de lipidosis hepática en tejido hepático utilizando tinciones de H-E y sudán.

Grado	Denominación	Descripción
0	Normal	Vacuolas indefinidas (glucógeno, degeneración hidrópica) en menos del 25% de los hepatocitos. Vacuolas de lípidos en menos del 25% de los hepatocitos.
1	Ligera	Vacuolas indefinidas en el 25% al 50% de los hepatocitos. Vacuolas de lípidos en el 25% al 50% de los hepatocitos, en su mayoría microvesiculares.
2	Moderada	Variable cantidad de vacuolas indefinidas en los hepatocitos. Vacuolas de lípidos en el 50% al 75% de los hepatocitos, en su mayoría microvesiculares y en ocasiones macrovesiculares. Ocasionales hepatocitos con núcleo excéntrico.
3	Severa	Variable cantidad de vacuolas indefinidas en los hepatocitos. Vacuolas de lípidos en más del 75% de los hepatocitos, tanto microvesiculares como macrovesiculares. Cantidad elevada de hepatocitos con núcleo excéntrico. Pérdida de la arquitectura de cordones hepáticos.

• Modificada de Biourge *et al.* (1993)

2.4. Análisis estadístico

2.4.1 Estudio en vacas lecheras

Se realizaron pruebas de T de Student para evaluar diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a las pruebas de coagulación y sus respectivas diluciones, al igual que en los analitos de bioquímica sérica y del hemograma. Se utilizó un análisis de varianza para mediciones repetidas para estudiar el efecto de la condición individual (sano-enfermo) sobre los tiempos de coagulación por medio de la prueba T de Bonferroni y así detectar diferencias entre diluciones. Se relacionaron descriptivamente los analitos estudiados de acuerdo al grado de lipidosis hepática por examen histológico, al igual que por la prueba de flotación.

2.4.2 Estudio en gatos

Se obtuvieron las estadísticas descriptivas: media y desviación estándar de las pruebas de coagulación con sus respectivas diluciones, así como de los analitos de bioquímica sérica y del hemograma, para observar si había diferencia entre ambos grupos.

Los análisis estadísticos se efectuaron aplicando el programa computacional SAS.⁸⁸

4. RESULTADOS

4.1. Estudio en vacas lecheras

De las 20 vacas seleccionadas para el estudio, las 10 vacas en el grupo testigo presentaron una condición corporal media de 3.2 (2.5 – 3.5) así como constantes fisiológicas (frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca y temperatura) dentro de valores de referencia. Las 10 vacas lecheras en el grupo problema (lipidosis hepática) presentaron una condición corporal media de 2.2 (1.8 – 2.5), una de estas vacas estaba postrada por un aborto dos días antes, 3 presentaban claudicación por pododermatitis y dos presentaban mastitis crónica. La inclusión en el grupo testigo o problema se basó en el examen físico de los animales y en la prueba de flotación de tejido hepático, así como en el estudio histológico de tejido hepático. De acuerdo a la prueba de flotación de tejido hepático, las 10 vacas del grupo testigo fueron negativas, es decir no flotaron en ninguna de las soluciones, mientras que de las 10 vacas del grupo problema, 5 tuvieron flotación con la solución de 1.055 de densidad clasificándose como lipidosis ligera y las 5 restantes flotaron tanto en la solución con densidad de 1.055 como en la de 1.025 clasificándose como lipidosis moderada. Con el examen histológico del tejido hepático, 9 vacas del grupo testigo fueron clasificadas con grado 0 y una vaca con grado 1 o lipidosis ligera. En el grupo problema 7 vacas fueron clasificadas con grado 2 o lipidosis moderada y 3 vacas con grado 3 o lipidosis severa (cuadro 3). Cabe mencionar que en la preselección de las vacas problema, 5 vacas que habían sido positivas a la prueba de flotación no fueron seleccionadas para el grupo final, debido a que 2 vacas presentaron en el examen histológico amiloidosis y 3 vacas proceso inflamatorio supurativo difuso.

Los valores medios en segundos de las pruebas de coagulación se incrementaron al hacer las respectivas diluciones como se observa en el cuadro 4. El valor medio del tiempo de protrombina al 100% en el grupo testigo fue de 16.5 segundos, mientras que en el grupo problema de 18.1 segundos, no encontrándose diferencia significativa entre las medias de ambos grupos ($p=0.118$), sin embargo utilizando las diluciones al 50% y al 25% se observó diferencia significativa entre las medias de ambos grupos ($p=0.004$ y $p=0.001$) respectivamente, utilizando un análisis de varianza para mediciones repetidas para estudiar

el efecto de la condición individual (sano-enfermo) sobre los tiempos de coagulación por lo cual se realizó la prueba T de Bonferroni para detectar diferencias entre diluciones (cuadro 5) encontrándose diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$)

El valor medio del TTP al 100% en el grupo testigo fue de 32.9 segundos, mientras en el grupo problema de 29.9 segundos, no encontrándose diferencias significativas entre las medias de ambos grupos ($p=0.167$), tampoco hubo diferencia estadísticamente significativa ($p=0.471$) entre las medias de ambos grupos en el TTP al 50%. Sin embargo el TTP al 25% no se consideró debido a que la mayoría de las muestras no coagulaban al momento del análisis o el aparato mostraba inestabilidad para la detección del coágulo.

Los valores medios de los analitos bioquímicos en suero se presentan en el cuadro 6, encontrándose diferencias significativas entre el grupo testigo y el grupo problema en los AGL ($p=0.001$), AST ($p=0.007$) y triglicéridos ($p=0.044$). En las concentraciones séricas de colesterol, bilirrubina total, proteínas totales, albumina, urea y actividades de gamma glutamil transferasa entre el grupo testigo y problema no se encontraron diferencias significativas.

En los valores medios de los analitos en el hemograma, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos testigo y problema, a excepción del fibrinógeno en el cual se encontró una diferencia significativa ($p=0.0001$) como se observa en el cuadro 7.

Comparando el grado de lipidosis hepática por medio de la evaluación histológica y por el método de flotación no se aprecia disminución o aumento importante en las pruebas de coagulación, incluyendo las diferentes diluciones.

En cuanto a los analitos bioquímicos séricos se observa un aumento gradual de los AGL y de la actividad de AST de acuerdo a la severidad de lipidosis hepática por medio del examen histológico (figuras 1 y 2). No apreciándose cambios importantes en triglicéridos y fibrinógeno. Comparando lo anterior pero con el grado de lipidosis hepática por medio de la prueba de flotación de tejido hepático, se aprecian aumentos importantes en el caso de AGL, AST y fibrinógeno (figuras 3 a 5), en contraste con los triglicéridos que no muestran cambio importante de acuerdo al grado de lipidosis hepática.

4.2 Estudio en gatos

En la primera etapa de acondicionamiento los gatos alcanzaron una ganancia de peso de 5,680 g (4,700 a 7,000 g) Durante los dos meses que duró el acondicionamiento estos se encontraron de buen ánimo y apetito, además de no observarse signos clínicos de enfermedad En la segunda etapa del experimento (inducción de lipidosis hepática) los gatos del grupo experimental tuvieron un descenso progresivo de peso a partir de la segunda semana hasta la octava semana del experimento, mientras que los gatos del grupo testigo mantuvieron su peso constante (figura 6)

A través del experimento todos los gatos del grupo experimental mostraron depresión, pero se mantuvieron de buen apetito A la cuarta semana del experimento dos gatos presentaron ligera agresividad, sin embargo en las semanas siguientes se mantuvieron deprimidos pero alertas Durante el experimento ningún gato presentó ictericia

En la prueba de flotación del tejido hepático, los gatos del grupo testigo fueron negativos, mientras que en los gatos del grupo experimental, 1 fue negativo y los otros 3 fueron clasificados como lipidosis hepática ligera debido a que sus muestras de tejido hepático solo flotaron en la solución que contenía una densidad de 1.055 Con base en el examen histológico del tejido hepático 1 gato del grupo testigo fue clasificado con grado 0 y el otro gato con grado 1 En el grupo experimental, 1 gato fue clasificado con grado 2, es decir lipidosis hepática moderada y los tres gatos restantes con grado 3 ó lipidosis hepática severa (cuadro 8) Por lo tanto se confirma la inducción de lipidosis hepática en los gatos del grupo experimental.

Los valores medios de IP al 100% se encontraron en valores de referencia de 9 a 15 segundos en ambos grupos, el IP al 50% se observa en la figura 7, encontrándose los gatos del grupo testigo en valores de referencia, mientras que los gatos del grupo experimental se encontraron ligeramente arriba del valor de referencia y el IP al 25% se observa en la figura 8, encontrándose ambos grupos por arriba de los valores de referencia, apreciándose ligeramente mayor tiempo en los gatos del grupo experimental Los valores medios del TTP al 100% se observan en la figura 9, encontrándose dentro de valores de referencia de 12 a 22 segundos en el grupo testigo, en el grupo experimental se observa un incremento ligero a partir de la segunda semana, sin embargo a partir de la sexta semana comenzó a haber un

descenso en el tiempo hasta llegar al rango de referencia en la octava semana. Los valores del TTP al 50% se observan en la figura 10, encontrándose en ambos grupos por arriba de los valores de referencia, pero apreciándose un descenso a partir de la quinta semana en el grupo problema y llegando al rango de referencia en la octava semana, en el caso del TTP al 25% se encontraron por arriba del rango de referencia sin observarse una diferencia apreciativa en ambos grupos.

Con respecto a la bioquímica sérica, los valores medios de AGL se observan en la figura 11, encontrándose en valor de referencia < 0.8 mmol/L al comienzo del experimento, apreciándose un aumento a partir de la segunda semana en el grupo experimental y manteniéndose arriba del valor de referencia hasta la quinta semana, en la sexta semana estos valores regresaron al valor de referencia, en la séptima semana mostraron un aumento marcado y volviendo al valor de referencia a la octava semana. Sin embargo en el grupo testigo se mantuvo en valor de referencia a excepción de la séptima semana en la cual hubo un aumento importante.

Los valores medios de FA, AST y albúmina se encontraron en valor de referencia (< 107 UI/L, < 61 UI/L y $26 - 34$ g/L, respectivamente) en el grupo testigo al igual que en el grupo experimental. Sin embargo, en la ALT se observaron en el rango de referencia (< 72 UI/L) en el grupo testigo mientras que en el grupo experimental se incrementaron a partir de la cuarta semana alcanzando su nivel máximo a la sexta semana y regresando a valores de referencia en la séptima y octava semana como se observa en la figura 12. Con respecto a la CK se encontraron en rango de referencia (< 277 UI/L) en el grupo testigo y por arriba del valor de referencia en la segunda y cuarta semana en el grupo experimental (figura 13). En cuanto a la BT se encontraron dentro de los valores de referencia ($1.7 - 3.4$ μ mol/L) en el grupo testigo a lo largo del experimento, y sólo un ligero aumento en la tercera y quinta semana en el grupo experimental (figura 14). El colesterol se observó en valores de referencia ($1.81 - 3.88$ mmol/L) en el grupo testigo e incrementados al comienzo del experimento y en la octava semana en el grupo experimental (figura 15) mientras que los triglicéridos (figura 16) se encontraron en valores de referencia ($0.57 - 1.14$ mmol/L) en el grupo testigo y disminuidos en el grupo experimental a partir de la segunda semana hasta la

octava semana. En las concentraciones séricas de glucosa y urea no hubo valores fuera de los rangos de referencia en ambos grupos

En cuanto al hemograma los resultados se encontraron en rangos de referencia, solo observándose ligera disminución de glóbulos blancos en el grupo experimental en la quinta semana

5. DISCUSIÓN

La literatura existente sobre pruebas de coagulación en el ganado bovino es escasa, debido a que hay muy pocos casos informados de anomalías en los sistemas hemostáticos de esta especie. Sin embargo, la realización de éstas es mandatoria cuando se sospecha de coagulación intravascular diseminada, intoxicación con trébol dulce, enfermedad hepática y deficiencia congénita de factores de la coagulación.²⁸

En el caso de gatos existe mayor información respecto a estas pruebas, aunque en su mayoría son reportes de estudios retrospectivos sobre anomalías en las pruebas de coagulación en diferentes presentaciones clínicas de enfermedad.⁴⁸

Heuwieser *et al*⁸⁹ describieron valores normales de TP en 90 vacas sanas de 20.1 a 30.1 segundos y de TTP de 25.3 a 44.5 segundos. En este estudio se obtuvieron valores de TP en las vacas sanas de 14.7 a 18.2 y en las vacas con lipidosis hepática de 15.4 a 24.3 segundos, en cuanto al TTP se obtuvieron valores en las vacas sanas de 28 a 40.5 segundos y en las vacas con lipidosis hepática de 18.5 a 65.6 segundos a pesar de no encontrarse diferencias significativas entre el grupo de las vacas sanas y vacas con lipidosis hepática como se mencionó en los resultados. Estas discrepancias en los valores de referencia descritos por los otros autores con respecto a los obtenidos en este estudio dependen de muchos factores: 1) el tipo de aparato utilizado para la determinación de las pruebas de coagulación, 2) el tipo y lote de reactivos utilizados y 3) la persona que realice las pruebas, por lo tanto se ha recomendado que cada laboratorio obtenga sus valores de referencia que se consideren normales de acuerdo a las condiciones con las que estén trabajando. En el laboratorio clínico del Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM no existen valores de referencia en las pruebas de coagulación para las diferentes especies domésticas de acuerdo a las condiciones con las que se está trabajando, por lo tanto, se deberían realizar estudios más completos para obtener valores de referencia. Sin embargo, algo recomendado en la literatura es realizar las pruebas de coagulación de los pacientes problemas en conjunto con pruebas en un paciente clínicamente sano como control o comparar con los valores obtenidos de un "pool" de plasmas de animales sanos de la misma especie.

En el caso de los gatos se han descrito valores de referencia en el TP de 8.4 a 10.8 segundos y del TTP de 13.7 a 30.2 segundos ⁹⁰ O'Rourke *et al* ⁹¹ obtuvieron valores de TP de 7.3 a 11.4 segundos y de TTP de 10.6 a 14.9 segundos. En análisis previos en el laboratorio clínico del Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM se encontraron valores en el TP de 9 a 15 segundos y en el TTP de 12 a 22 segundos por lo que estos fueron tomados como referencia en el estudio de los gatos, en los cuales se encontraron valores de TP en el grupo testigo de 9.6 segundos a 13.1 segundos y en el grupo experimental de 10.1 a 20.3 segundos, así como en el TTP en el grupo testigo de 12.8 a 21.9 segundos y en el grupo experimental de 9.1 a 42.8 segundos. Estas diferencias en cuanto a los valores de referencia son debido a lo mencionado anteriormente en las pruebas de coagulación por cada laboratorio.

El tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial han demostrado ser indicadores sensibles de enfermedad hepática en el perro, especialmente cuando se realizan en diluciones seriadas del plasma. En un estudio no fueron específicas para algún tipo en particular de enfermedad hepática. Debido a que el TP y el TTP dependen de muchos factores de coagulación, las alteraciones en uno o más de estos factores durante los diferentes tipos de enfermedad hepática pueden ser responsables de valores alterados en el TP y TTP. ⁴

Realizando las pruebas de coagulación optimizadas se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de vacas con el TP al 50% y el TP al 25% y no se encontraron diferencias significativas en cuanto a las pruebas de TTP al 100% y TTP al 50%. No existe literatura de pruebas de coagulación optimizadas en las vacas lecheras, por lo tanto, sería importante realizar estudios más extensos para dilucidar si la utilización de estas pruebas optimizadas dan pautas realmente precisas de alteraciones en determinados tipos de enfermedad hepática. En el caso del presente estudio se observó que haciendo las pruebas optimizadas en el TP sí hubo diferencia significativa entre el grupo de vacas sanas y el de vacas con lipidosis hepática, no siendo significativo en el caso del TTP optimizado.

La disminución en ciertos factores de la coagulación está asociada con hepatopatías específicas, por ejemplo los niveles plasmáticos del factor VIII en perros disminuyen con neoplasias hepáticas, mientras que los factores VII y X se encuentran disminuidos en

neoplasias hepáticas y amiloidosis primaria en seres humanos, el factor XI tiende a estar disminuido en perros con degeneración hepática ⁶⁵ En este estudio no se determinaron factores específicos.

En un estudio realizado por Thomas *et al* ⁴⁸ encontraron que de 85 gatos con diferentes enfermedades el 45% de estos tuvieron uno o más resultados anormales en las pruebas de coagulación, las cuales incluyeron el TP, el TTP, el tiempo de trombina y la determinación de los productos de la degradación de la fibrina, de estos gatos las enfermedades asociadas con prolongación del TP incluyeron principalmente lipidosis hepática y otros problemas como hipertiroidismo y cardiomiopatías. Las enfermedades asociadas con prolongación del TTP incluyeron puentes portosistémicos, neoplasias, enfermedades neurológicas y otras enfermedades. Enfermedades asociadas con prolongación en ambos tiempos (TP y TTP) incluyeron enfermedades hepáticas (ej lipidosis hepática y colangiohepatitis), neoplasias (linfoma y mastocitosis sistémica) y otros problemas como intoxicaciones y envenenamiento por mordedura de serpiente. En otro estudio realizado por Peterson *et al* ⁹² encontraron anomalías en las pruebas de coagulación en el 69% de 101 gatos de los cuales las principales enfermedades que los afectaron fueron lipidosis hepática y neoplasias. Deniz *et al* ⁵⁹ estudiaron el TTP en 21 gatos con diferentes enfermedades encontrando incremento en esta prueba, de los 21 gatos, 4 tuvieron lipidosis hepática. También realizaron pruebas optimizadas pero notaron que perdían sensibilidad, lo cual atribuyeron a discrepancias en el incremento de los valores por la transposición de los valores obtenidos en las diferentes diluciones. En este trabajo se observó que los gatos con lipidosis hepática tuvieron valores de TP por arriba de los valores de referencia, siendo esto de manera apreciativa debido al número de gatos en el experimento el cual fue muy reducido para inferir su relevancia, en la prueba de TP al 50% los gatos del grupo testigo se mantuvieron en el rango de referencia, lo cual demuestra que los gatos del grupo experimental en realidad sí presentaron disminuciones en algunos factores de la coagulación debido a que sí mostraron un aumento apreciativo en el TP al 50%. Al observar lo sucedido en el TP al 25% ambos grupos presentaron aumento en los valores siendo más marcado en el grupo experimental. El TTP al 100% se mantuvo en el valor de referencia en el grupo testigo, mientras que en el grupo experimental se observó un

incremento a partir de la segunda semana del experimento lo cual demuestra que podría haber disminución en factores que actúan en las vías de coagulación evaluadas por esta prueba, la disminución observada a partir de la sexta semana podría deberse a aumento en el valor del fibrinógeno que puede ocurrir en procesos crónicos de inflamación que pudieron haber sucedido en el caso de la lipidosis hepática que presentaron estos gatos y lo cual pudo haber hecho que se obtuvieran valores de TTP más cortos al final del experimento incluso llegando a valores de referencia como se observa en la figura 9. Lo mismo se podría explicar en el grupo experimental respecto al TTP al 50% (figura 10) Con respecto al TTP al 25% no se observaron diferencias apreciativas entre ambos grupos y esto podría dar la pauta a suponer que en cuanto mayor es la dilución se pierde sensibilidad en la prueba

La prolongación del TP y un TTP normal sugieren un defecto en el factor VII en la vía extrínseca del sistema de coagulación y fue encontrado más comúnmente en gatos con enfermedad hepática, notablemente en lipidosis hepática. El incremento en el TP fue el defecto hemostático más comúnmente informado en un estudio de lipidosis hepática en gatos y se propuso que fue el resultado de deficiencia de vitamina K o insuficiencia sintética del hígado, además solo 3 gatos de los 77 estudiados tuvieron episodios de hemorragia ⁶⁰. En este estudio de gatos con inducción de lipidosis hepática fue más notable el cambio en el TP con respecto al TTP por lo que concuerda con lo reportado

Las alteraciones en la síntesis hepática de los factores de coagulación pueden ser análogas a la síntesis de albúmina por parte del hígado. Se sabe que la albúmina es una proteína que sólo se sintetiza en el hígado, que tiene una vida media mayor que los factores de la coagulación y que su concentración se ve frecuentemente disminuida como consecuencia de muchas enfermedades hepáticas. Los valores de TP y TTP se correlacionan bien con alteraciones en la concentración de albúmina plasmática. ⁵ Por lo tanto, la disminución en la síntesis de otras proteínas producidas por el hígado como los factores de coagulación pudieron haber provocado un incremento en el TP y TTP observados en ese estudio. En el estudio realizado en las vacas lecheras no se encontró diferencia significativa en los valores de albúmina en ambos grupos. En el caso de los gatos tampoco se observó disminución de la albúmina, por lo que se puede inferir que es más

prematura la disminución en la síntesis de factores de la coagulación debido a su vida media más corta

Badylak et al.⁵ observaron que la determinación de factores específicos de la cascada de la coagulación en perros proveen mayor especificidad para diferentes anomalías morfológicas de enfermedad hepática que el TP y el TTP por sí solos, sin embargo en un estudio realizado en seres humanos por Green et al.⁹³ encontraron que en pacientes con ictericia obstructiva, enfermedad hepática crónica activa y cirrosis descompensada la determinación del factor VII no dio información adicional que el TP por sí solo. En aquellos pacientes con cirrosis descompensada, la insuficiencia para responder a la administración de vitamina K fue demostrada igualmente por ambas pruebas y ninguna información adicional del TP fue provista por la determinación del factor VII para clasificar la severidad y el pronóstico. Sin embargo, notaron una buena correlación del factor VII y el nivel de albúmina, pero el amplio valor de referencia de la concentración de albúmina más el efecto de otras enfermedades sistémicas (ej. daño renal) limita su sensibilidad como un marcador de síntesis hepática.

En otro estudio Mischke⁹⁴ observó que realizando pruebas optimizadas del TP en perros es más sensible para detectar ligeras deficiencias de los factores del complejo de la protrombina y sería adecuado para monitorear a pacientes con terapia de vitamina K después de intoxicación con cumarínicos. En este estudio se apreció la alteración del TP en las pruebas optimizadas de una manera más evidente.

Lisciandro *et al.*⁹⁵ describieron que el 82% de 22 gatos con enfermedad hepática tuvieron al menos una prueba anormal en el perfil de la coagulación. La prolongación del TP fue la alteración más común (16/22 gatos) y la actividad del factor VII estuvo por debajo del valor de referencia (< 60%) en 15 gatos. Cuando se clasificaron de acuerdo a la patología específica, la deficiencia de vitamina K fue la anomalía encontrada con más frecuencia (11/22 gatos). Otras anomalías fueron menos comunes e incluyeron insuficiencia sintética hepática (3/22), indeterminado (3/22) y CID (1/22). El incremento en la actividad de FA fue la única anomalía en la bioquímica sérica que mostró correlación estadísticamente significativa con las anomalías en la coagulación ($p=0.023$), los gatos con marcado incremento en la actividad de FA fueron los que más comúnmente tuvieron

anormalidades en la coagulación que aquellos con ligero a moderado incremento en la actividad de FA. En el caso de los gatos en un estudio realizado por Biourge *et al*⁸⁰ se encontró que la actividad enzimática de FA se eleva más comúnmente en lipidosis hepática, pero en este estudio los valores de FA se encontraron en valores de referencia en el grupo experimental, no se podría explicar concretamente el porqué se mantuvieron en valores de referencia a pesar de que se confirmó la lipidosis hepática con el examen histológico, se puede suponer que los valores de referencia para FA utilizados en el laboratorio clínico de la FMVZ-UNAM son muy amplios ya que al observar la figura 17 se observó que los valores de la actividad de esta enzima están mas elevados en los gatos del grupo experimental en comparación con los gatos del grupo testigo, alcanzando su valor máximo a la sexta semana. También se ha mencionado aumento de la actividad enzimática de la ALI, en el caso de este estudio se observó el mayor incremento a la sexta semana, a diferencia del estudio realizado por Biourge *et al*⁸⁰ donde existió un incremento significativo pero no mencionan en que semana de su experimento se presentó la mayor actividad.

Se ha mencionado que los ácidos grasos libres se encuentran incrementados en vacas con lipidosis hepática,⁷⁶ lo cual concuerda con lo observado en las vacas con lipidosis hepática en este estudio, por lo tanto, se considera que este analito es de gran importancia para el diagnóstico de lipidosis hepática. En los gatos del grupo experimental también se observó un incremento importante en los AGL lo cual confirma el aumento en la lipólisis del tejido adiposo y liberación de los AGL hacia el hígado⁹⁶

La actividad sérica de las enzimas hepatocelulares no son indicadores sensibles de lipidosis hepática en bovinos, sin embargo la AST ha sido la única enzima que se ha correlacionado mejor con lipidosis hepática en esta especie.⁷⁶ En este estudio se observó un aumento en la actividad y diferencias estadísticamente significativas en las vacas con lipidosis hepática con respecto a las vacas sanas. La concentración de colesterol sérico parece variar inversamente proporcional con la concentración de lípidos hepáticos en el ganado bovino,⁷⁶ a pesar de que en este estudio no se encontraron diferencias significativas entre el grupo de vacas sanas y el grupo de vacas con lipidosis hepática. En el caso de los gatos del grupo experimental se observó un aumento apreciativo en la octava semana pero

posiblemente fue un hallazgo incidental que no podría relacionarse a lo observado en las vacas lecheras. Se menciona baja concentración de triglicéridos en vacas con lipidosis hepática,⁷² lo cual se observó en las vacas del grupo problema en este estudio ya que hubo diferencia significativa entre éstas y las vacas del grupo control. Lo mismo se observa en los gatos que a partir de la segunda semana del experimento y a lo largo de éste se encontraron por debajo de los valores de referencia, esto podría estar asociado al impedimento en la liberación de lipoproteínas de muy baja densidad que se observa en casos de lipidosis hepática.⁷² La concentración de bilirrubina sérica se encuentra frecuentemente elevada en gatos con lipidosis hepática, particularmente cuando la enfermedad progresa.⁸⁶ Biourge *et al.*⁸⁰ encontraron en su estudio un incremento de bilirrubina al final de su experimento, es decir, a la séptima semana, además de que la mayoría de los gatos estudiados por ellos presentaron ictericia de la tercera a la quinta semana, esto no se observó en este estudio ya que sólo hubo ligero incremento en la bilirrubina total en la tercera y quinta semana, además que los gatos del grupo experimental jamás mostraron ictericia que es uno de los hallazgos clínicos más comunes en gatos con lipidosis hepática.

El ayuno no produce acumulación hepática de lípidos en humanos, sino ha sido asociado con una disminución en la concentración de lípidos hepáticos.⁹⁷ En perros adultos obesos no se describieron incrementos en la actividad de FA y concentraciones de BT después de 35 a 50 días de ayuno.⁹⁸ En dos perros clínicamente sanos, la examinación histológica del tejido hepático después de 20 días de ayuno no reveló anormalidades.⁹⁸ El ayuno está asociado a síndrome de hígado graso en cobayos,⁹⁹ ovejas gestantes,¹⁰⁰ ponies¹⁰¹ y vacas posparto,^{76 100} pero en todas estas especies el síndrome se desarrolló en pocos días después del ayuno, opuesto a semanas en los gatos del estudio realizado por Biourge *et al.*⁸⁰ Esta variación sugiere diferencia entre especies en el metabolismo catabólico relacionado al ayuno en gatos obesos. Un síndrome de lipidosis hepática más similar al presentado en gatos ha sido observado en monos obesos.¹⁰²

Los gatos con lipidosis hepática también tienen signos de disminución de proteínas que producen atrofia muscular, hipoalbuminemia y anemia pobremente regenerativa.^{52.60} En este estudio sólo se observó la atrofia muscular, ya que los niveles de albúmina se

mantuvieron constantes a lo largo del experimento, además de que los gatos nunca presentaron anemia

Al hacer las comparaciones de las pruebas de coagulación con sus respectivas diluciones y los diferentes grados de lipidosis hepática por evaluación histológica, se observó que el grado de lipidosis hepática no influyó sobre los tiempos de coagulación, es decir que no se aprecian valores mayores en las pruebas de coagulación entre más severa fue la acumulación de lípidos en el hígado, lo mismo se observó al hacer las comparaciones con la técnica de flotación

Se llega a la conclusión de que los tiempos de coagulación están prolongados en animales con lipidosis hepática, debido a que el hígado no sintetiza cantidades adecuadas de factores de la coagulación. Además de que el uso de las pruebas optimizadas detectan variaciones mínimas que no se aprecian al utilizar el TP y el TTP de manera convencional, por lo tanto sería necesario realizar estudios más extensos con mayor número de animales para tener inferencias más confiables.

Aunque la evidencia clínica de sangrado espontáneo es extremadamente raro en vacas y gatos, la evidencia de anormalidades en las pruebas de coagulación es común, por lo que se debería evaluar prospectivamente a animales con o sin signología para poder llevar a cabo planes terapéuticos que disminuyan la morbilidad y mortalidad en esta enfermedad

De este estudio también se concluye, que el uso de una sola prueba de laboratorio o sólo criterios histológicos para definir la severidad de la enfermedad hepática podrían dar resultados erróneos para identificar verdaderamente a los animales con lipidosis hepática.

6. LITERATURA CITADA

- 1 Palmer RL. Laboratory diagnosis of bleeding disorders. *Postgraduate Medicine* 1984; 76:137-148.
- 2 Troy GC. An overview of hemostasis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988; 18:5-20
- 3 Sutherland RJ. Biochemical evaluation of hepatobiliary system in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1989; 19:899-927.
4. Badylak SF, Van Vleet JF. Alterations of prothrombin time and activated partial thromboplastin time in dogs with hepatic disease. *Am J Vet Res* 1981; 42:2053-2056.
- 5 Badylak SF, Dodds WJ, Van Vleet JF. Plasma coagulation factor abnormalities in dogs with naturally occurring hepatic disease. *Am J Vet Res* 1983; 44:2336-2340
6. Cebra CK, Garry FB, Getzy DM, Fettman MJ. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating holstein cattle: A retrospective study of serum biochemical abnormalities. *J Vet Int Med* 1997;11:231-237
- 7 Breukink HJ and Wensing T. Pathophysiology of the liver in high yielding dairy cows and its consequences for health and production. *Isr J Vet Med* 1997; 52:66-72
- 8 Hubbard BJ, Vulgamott JC. Feline hepatic lipidosis. *Compen Contin Educ Pract Vet* 1992;14:459-465
- 9 Center SA. Hepatic lipidosis. In: August JR, ed. *Consultations in feline internal medicine 2*. Philadelphia, WB Saunders, 1994:87-101
10. Armstrong PJ. Hepatic lipidosis. *Vet Prev* 1994; 1:10-11.
- 11 Meyer DJ: Evaluation of Hemostasis: Coagulation and Platelet Disorders. In: Meyer DJ and Harvey JW eds. *Veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis*. Philadelphia, WB Saunders, 1998:111-137
- 12 Hackner SG. Approach to the diagnosis of bleeding disorders. *Compend Cont Ed Pract Vet* 1995; 17:331-349
13. Handin IR. Disorders of the platelet and vessel wall. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine* McGraw-Hill 14th de Cd-room, 1998

- 14 Feldman BF, and Thomason KJ Quantitative platelet disorders Vet Clin North Am Small Anim Pract 1988; 18:35-49
- 15 Feldman BF Diagnostic Approaches to coagulation and fibrinolytic disorders. Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal) 1992; 7:315-322.
- 16 Suchman AL, Griner PF. Diagnostic uses of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time. Annals of Internal Medicine 1986;104:810-816
- 17 Peterson P, Gottfried EL. The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). Thromb Haemostas 1982; 47:101-103
- 18 Weiss AE. Acquired coagulation disorders. In: Corriveau DM, Fritsma GA Hemostasis and Thrombosis in the Clinical Laboratory 1st ed Lippincott Company, 1988:169-204
- 19 Rebhun WC Thrombocytopenia associated with acute bovine virus diarrhea infection in cattle J Vet Intern Med 1989;3:42-46
- 20 Osweiler GD, Rurh LP Plants affecting blood coagulation In: Howard JL ed. Current Veterinary Therapy Food Animal Practice 2 WB Saunders, Philadelphia, Pa 1986:404-406
- 21 Steficek BA. Hemorrhagic diathesis associated with a hereditary platelet disorder in Simmental cattle. J Vet Diagn Invest 1993;5:202-207.
- 22 Blood DC Disease caused by the inheritance of undesirable characters Veterinary Medicine, 6th ed. Bailliere Tindall, London, U.K. 1983:1211-1218
- 23 Sullivan PS Bleeding diathesis associated with variant von Willebrand factor in a Simmental calf. J Am Vet Med Assoc 1994;205:1763-1766
- 24 Healy PJ Haemophilia in Hereford cattle: Factor VIII deficiency Aust Vet J 1984;61:132-133
- 25 Brush PJ Bovine factor XI deficiency In Pract 1991;13:26-29
- 26 Brush PJ, Gentry PA Bovine factor XI deficiency: Relationships between heterozygotes in Canada and Britain Vet Rec 1988;122:134
- 27 Alstad AD, Sullivan PS. Vitamin K treatment of sweet clover poisoning in calves. J Am Vet Med Assoc 1985;187:729-731.

28. Grubbs ST, Olchowy IW. Bleeding disorders in cattle: A review and diagnostic approach. *Vet Med* 1997; 737-743
29. Green RA, White F. Feline factor XII (Hageman) deficiency. *Am J Vet Res* 1977;38:893-895
30. Kier AB, Bresnahan JF, White FJ. The inheritance pattern of factor XII (Hageman) deficiency in domestic cats. *Can J Comp Med* 1980;44:309-314
31. Kier AB, McDonnell JJ, Stern A. The arthus reaction in cats deficient in Hageman factor (factor XII). *J Comp Path* 1990;102:33-47.
32. Parker MT, Collier LL, Kier AB, Stern A. Oral mucosa bleeding times of normal cats and cats with Chediak-Higashi syndrome or Hageman trait (factor XII deficiency). *Vet Clin Path* 1988;17:9-12.
33. Hoffman L, Sperling K, Dodds WJ. Acquired hemostatic problems in a cat with factor XII deficiency. *Fel Pract* 1986;16:25-27
34. Littlewood JD, Evans RJ. A combined deficiency of factor VIII and contact activation defect in a family of cats. *Br Vet J* 1990;146:30-35
35. Johnstone IB, Morton JC, Allen DG. Factor VIII deficiency in a cat. *Can Vet J* 1987;28:671-673
36. Littlewood JD. Haemophilia A (Factor VIII deficiency) in the cat. *J Small Anim Pract* 1986;8:541-546
37. Brooks MB, Dodds WJ. Factor IX deficiency (hemophilia B) in two male domestic Short-hair cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1989;25:153-155
38. Maggio-Price L, Dodds WJ. Factor IX deficiency (hemophilia B) in a family of British shorthair cats. *J Am Vet Med Assoc* 1993;203:1702-1704
39. Maddison JE, Watson AD, Fade IG. Vitamin K-dependent multifactor coagulopathy in Devon Rex cats. *J Am Vet Med Assoc* 1990;197:1495-1497.
40. Weiss RC, Dodds DJ, Scott FI. Disseminated intravascular coagulation in experimentally induced feline infectious peritonitis. *Am J Vet Res* 1980;41:663-671
41. Cain GR, Cain JL, Turrel JM. Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in a cat after bone marrow transplantation. *Vet Pathol* 1988;25:161-162

- 42 Willard MD, Bailey MQ, Hauptman J. Obstructed portal venous flow and portal vein thrombus in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1989;194:1449-1451.
- 43 Holloway SA, Parry BW. Observations on blood coagulation after snakebite in dogs and cats. *Aust Vet J* 1989;66:364-366.
- 44 Perry LA, Williams DA, Pidgeon G. Feline exocrine pancreatic insufficiency with associated coagulopathy in a cat. *J Am Anim Hosp Assoc* 1991;27:109-114.
- 45 Couto GC. Disorders of hemostasis. In: Sherding RG, ed. *The Cat: Diseases and Clinical Management*. New York, NY: Churchill-Livingstone; 1993:739-753.
- 46 Solomon GE, Hilgartner MV, Kutt H. Phenobarbital-induced coagulation defects in cats. *Neurology* 1974;24:920-924.
- 47 Boudreaux MK, Weiss RC, Cox N. Evaluation of antithrombin-III activity as a coindicator of disseminated intravascular coagulation in cats with induced feline infectious peritonitis virus infection. *Am J Vet Res* 1989;50:1910-1913.
- 48 Thomas JS, Green RA. Clotting times and antithrombin III activity in cats with naturally developing diseases: 85 cases (1984-1994). *J Am Vet Med Assoc* 1998;213:1290-1295.
- 49 Laste NJ, Harpster NK. A retrospective study of 100 cases of feline distal aortic thromboembolism: 1977-1993. *J Am Anim Hosp Assoc* 1995;31:492-500.
- 50 Hughes D, King LG. The diagnosis and management of acute liver failure. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1995; 25:437-460.
- 51 Pichler ME, Turnwald GH. Blood transfusion in the dog and cat: Part I. Physiology, collection, storage and indications for whole blood therapy. *Compen Contin Educ Pract Vet* 1985; 7:64-71.
- 52 Strombeck DR, Guilford WG. *Small animal gastroenterology*. Davis, California, Stonegate Publishing, 1990; 465-518.
- 53 Comp PC. Production of plasma coagulation factors. In: Williams WJ and Bleutler E eds. *Hematology* 4th ed, New York, McGraw Hill, 1990:1285-1290.
- 54 O'Reilly RA, Aggler PM. Studies on coumarin anticoagulant drugs: Initiation of warfarin therapy without a loading dose. *Circulation* 1968; 38:169-177.

55. Strauss HS: Surgery in patients with congenital factor VII deficiency (congenital hypoconvertinemia) *Blood* 1965; 25:325-334
- 56 Biggs R, Denson KW. The fate of prothrombin and factors VIII, IX y X transfused to patients deficient in these factors *British Journal Haematology* 1963; 9:532-547.
- 57 Kupfer HG, Gee W. Statistical correlation of liver function tests with coagulation factor deficiencies in Laennee's cirrhosis. *Thromb Diath Haemorrh* 1963; 10:317-331.
- 58 Willis SE. Whole blood platelet aggregation in dogs with liver disease. *Am J Vet Res* 1989; 50: 1843-6
- 59 Deniz AR, Mischke R, Nolte I. Applicability of the activated partial thromboplastin time (aPTT) as a screening test of mild or medium deficiencies of coagulation factors in cats. *Dtsch Tierarztl Wschr* 1995;102:206-208.
- 60 Center SA, Crawford MA, Guida L. A retrospective study of 77 cats with severe hepatic lipidosis: 1975-1990. *J Vet Intern Med* 1993; 7:349-359
- 61 Crawford MA, Schall WD. Chronic active hepatitis in 26 Doberman pinschers. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 12:1343-1350
- 62 Wigton D. Infectious canine hepatitis: animal model for viral-induced disseminated intravascular coagulation. *Blood* 1976;47:287-293
- 63 Furnival C. The mechanism of impaired coagulation after partial hepatectomy in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1976;143:81-86
- 64 Biland LA. Quantitative estimation of coagulation factors in liver disease. The diagnostic and prognostic value of factor XIII, factor V, and plasminogen. *Thromb Haemost* 1978;3:646-656
- 65 Prater MR. Acquired coagulopathy II: Liver disease. In: Feldman BF, et al eds *Schalm's Veterinary Hematology* 2000:560-564
- 66 Badylak SF. Coagulation disorders and liver disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988; 18:87-93.
- 67 Meyer DJ. The liver: Part I. Biochemical tests for the evaluation of the hepatobiliary system. *Compen Contin Educ Pract Vet* 1982; 4:663-674
- 68 Hall RL. Laboratory evaluation of liver disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1985; 15:3-19.

- 69 Johnson SE. Diseases of the liver. In: Ettinger SJ and Feldman EC eds. Textbook of veterinary internal medicine Philadelphia, WB Saunders, 1995:1350-1353
- 70 MacLachlan NJ, Cullen JM: Liver, biliary system, and exocrine pancreas. In: Carlton W and McGavin MD eds. Thomson's special veterinary pathology 2nd ed. St Louis, Mosby, 1995:81-107.
- 71 Jones TC Intracellular and extracellular depositions; degenerations In: Jones TC et al eds. Veterinary pathology Baltimore, Williams and Wilkins , 1996:25-27
- 72 Herdt IH, Liesman JS, Gerloff BJ. Reduction of serum triacylglycerol-rich lipoprotein concentrations in cows with hepatic lipidosis. Am J Vet Res 1983;44:293-296
- 73 Yabuta AK, Bouda J. Síndrome de la vaca gorda y lipidosis hepática subclínica. Memorias del curso: Diagnóstico de campo y de laboratorio para el tratamiento de enfermedades en bovinos FMVZ, UNAM. Nov 16 al 19 de 1994 144-154
- 74 Grummer Rr Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. J Dairy Sci 1993; 76:3882-3886
- 75 Pearson EG, Maas J Hepatic Lipidosis. In: Smith BP ed. Large Animal Internal Medicine St Louis, Mo , Mosby Year Book. 1990.
- 76 Herdt IH. Fatty liver in dairy cows. Vet Clin North Am Food Anim Pract 1988;4:269-287.
- 77 Markusfeld O Parturition disease complex of the high-yielding dairy cow Acta Vet Scand 1993; 189:9-12
- 78 Markusfeld O, Nahari N Traits associated with de fat cow syndrome in dairy cattle. A combined clinical, epidemiological and biochemical study of a multifactorial disease syndrome Isr J Vet Med 1988; 44:176-178.
- 79 Jacobs G, Cornelius L. Treatment of idiopathic hepatic lipidosis in cats: 11 cases (1986-1987) J Am Vet Med Assoc. 1989; 195:635-638
- 80 Biourge VC, Groff JM, Munn RJ, Kirk CA, Nyland TG, Madeiros VA, Morris JG, Rogers QR. Experimental induction of hepatic lipidosis in cats. Am J Vet Res 1994; 55:1291-1302.
- 81 Biourge VC Sequential findings in cats with hepatic lipidosis Fel Pract 1993; 21:25-28

- 82 Dillon R. The liver in systemic disease: An innocent bystander. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1985; 15:97-117
- 83 Dimski D, Buffington C. Serum lipoproteins concentrations and hepatic lesions in obese cats undergoing weight loss. *Am J Vet Res* 1992;53:1259-1262.
- 84 Meyer D, Chiapella AS. Cholestasis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1985;15:215-218.
- 85 Zawie D, Garvey M. Feline hepatic disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1984;14:1201-1230
- 86 Dimski DS, Taboada J. Feline idiopathic hepatic lipidosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1995;25:357-373.
- 87 Knoll JS. Clinical automated hematology systems. In: Feldman BF, et al eds. *Schalm's Veterinary Hematology* 2000:3-11
- 88 SAS/STAT User's guide: Volume 2 GLM-VARCOMP. Versión 6, 4th de. Cary NC:SAS Inst. Inc., 1990
- 89 Heuwieser W, Biesel M, Grunet E. Physiological coagulation profile of dairy cattle. *Zentralbl Veterinarmed (A)* 1989; 36:24-31
- 90 Willard M, Ivedten H, Turnwald G. *Small Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* 2nd de, W.B. Saunders Company, Philadelphia 1994:359
- 91 O'Rourke L, Feldman BF, Ito RK. Coagulation, fibrinolysis, and kinin generation in adult cats. *Am J Vet Res* 1982; 43:1478-1480 (Abstract)
- 92 Peterson JL, Couto CG. Hemostatic disorders in cats: A retrospective study and review of the literature. *J Vet Intern Med* 1995; 9:298-303
- 93 Green G, Poller L. Factor VII as a marker of hepatocellular synthetic function in liver disease. *J Clin Path* 1976; 29:971-975
- 94 Mischke R. Evaluation of prothrombin time optimized for the dog on plasmas with defined coagulation factor deficiency due to coumarin intoxication. *Zentralbl Veterinarmed (A)* 1995;42:589-599 (Abstract)
- 95 Lisciandro SC, Hohenhaus A, Brooks M. Coagulation abnormalities in 22 cats with naturally occurring liver disease. *J Vet Intern Med* 1998; 12:71-75.

96. Pazak HE Characterization of serum lipoprotein profiles of healthy adult cats and idiopathic feline hepatic lipidosis patients *J Nutr* 1998; 128:2747-2750
97. Andersen T, Gluud C, Franzman MB Hepatic effects of dietary weight loss in morbidly obese subjects *J Hepatol* 1991; 12: 224-229
98. De Bruijne JJ Biochemical observations during total starvation in dogs *Int J Obesity* 1979; 3:239-247
99. Ganaway SR, Allen AM Obesity predisposes to pregnancy toxemia in guinea pig. *Lab Anim Sci* 1971; 21:40-44
100. Krinfeld DS Ketosis in pregnant sheep and lactating cows: a review. *Aust Vet J* 1972; 48:680-687.
101. Freestone JF, Wolfsheimer KJ, Ford RB Triglycerides, insulin, and cortisol responses of ponies to fasting and dexamethasone administration *J Vet Intern Med* 1991; 5:15-22
102. Laber-Laird KE, Jokinen MP, Lehier DM Fatal fatty liver-kidney syndrome in obese monkeys *Lab Anim Sci* 1987; 37:205-209. Hubbard BJ, Vulgamott JC Feline hepatic lipidosis *Compen Contin Educ Pract Vet* 1992;14:459-465

Cuadro 3. Grado de lipidosis de acuerdo a la evaluación histológica y prueba de flotación en tejido hepático en vacas lecheras (n=20)

Vaca lechera	Grado de lipidosis	
	Evaluación histológica	Prueba de flotación
Testigo	0	Negativa
Testigo	1	Negativa
Problema	2	Ligera
Problema	2	Ligera
Problema	2	Ligera
Problema	2	Moderada
Problema	3	Moderada
Problema	3	Moderada
Problema	3	Moderada

Cuadro 4. Valores medios y desviación estándar en segundos del tiempo de protrombina (TP) y del tiempo de tromboplastina parcial (TTP) en vacas lecheras (n=20)

Prueba	Plasma	Grupo		Probabilidad
		Testigo (n=10)	Problema (n=10)	
TP	100%	16.5 ± 1.29	18.1 ± 2.76	P = 0.118
TP	50%	17.0 ± 1.35	21.9 ± 4.53	P = 0.004
TP	25%	20.4 ± 1.78	29.2 ± 7.13	P = 0.001
TTP	100%	32.9 ± 4.99	29.9 ± 4.29	P = 0.167
TTP	50%	51.2 ± 9.13	47.77 ± 11.35	P = 0.471

TP (Tiempo de protrombina)

TTP (Tiempo de tromboplastina parcial)

Cuadro 5. Valores medios y desviación estándar en segundos de las diferencias entre diluciones en las pruebas de coagulación en vacas lecheras (n=20)

Prueba de coagulación	Grupo	
	Testigo (n=10)	Problema (n=10)
TP 100% a 50%	0.48 ± 0.32	3.78 ± 2.639
TP 50% a 25%	3.4 ± 0.932	7.27 ± 3.201
TP 100% a 25%	3.88 ± 1.039	11.05 ± 4.957
TTP 100% a 50%	18.23 ± 8.173	17.84 ± 8.638

TP (Tiempo de protrombina)

TTP (Tiempo de tromboplastina parcial)

Cuadro 6. Valores medios y desviaciones estándar de analitos selectos en suero sanguíneo en las vacas lecheras (n=20)

Analito	Grupo		Probabilidad
	Testigo (n=10)	Problema (n=10)	
AGL mmol/L	0.16 ± 0.06	0.94 ± 0.65	P = 0.001
AST U/L	78.7 ± 15.1	167.7 ± 86.4	P = 0.007
Colesterol mmol/L	3.88 ± 1.03	11.05 ± 4.95	P = 0.880
BT µmol/L	5.1 ± 2.5	24.8 ± 30.7	P = 0.058
PT g/L	69.1 ± 4.1	75.8 ± 11.7	P = 0.105
Albúmina g/L	27.8 ± 3.4	26.8 ± 6.8	P = 0.683
Urea mmol/L	4.17 ± 1.12	3.87 ± 0.92	P = 0.521
Triglicéridos mmol/L	0.12 ± 0.04	0.15 ± 0.03	P = 0.041
GGT U/L	18.2 ± 8.2	17.8 ± 8.6	P = 0.270

AGL (Ácidos grasos libres)

AST (Aspartato amino transferasa)

BT (Bilirrubina total)

PT (Proteínas totales)

GGT (Gamma glutamil transferasa)

Cuadro 7. Valores medios y desviaciones estándar de analitos selectos en hemograma en las vacas lecheras (n=20)

	Grupo		Probabilidad
	Testigo (n=10)	Problema (n=10)	
Ht L/L	0.26 ± 0.02	0.30 ± 0.07	P = 0.1511
PP g/L	73.4 ± 3.41	80.8 ± 12.23	P = 0.0817
Fibrinógeno g/L	3.80 ± 1.75	7.40 ± 1.65	P = 0.0001
Plaquetas	423 ± 135.7	558 ± 164.1	P = 0.2190
Leucocitos X10 ⁹ /L	7.60 ± 2.49	10.0 ± 2.92	P = 0.0869

Ht (Hematócrito)

PP (Proteínas plasmáticas)

Cuadro 8. Grado de lipidosis de acuerdo a la evaluación histológica y prueba de flotación en tejido hepático en gatos (n=6)

Gato	Grado de lipidosis	
	Evaluación histológica	Prueba de flotación
Testigo	0	Negativa
Testigo	0	Negativa
Experimental	2	Negativa
Experimental	3	Ligera
Experimental	3	Ligera
Experimental	3	Ligera

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

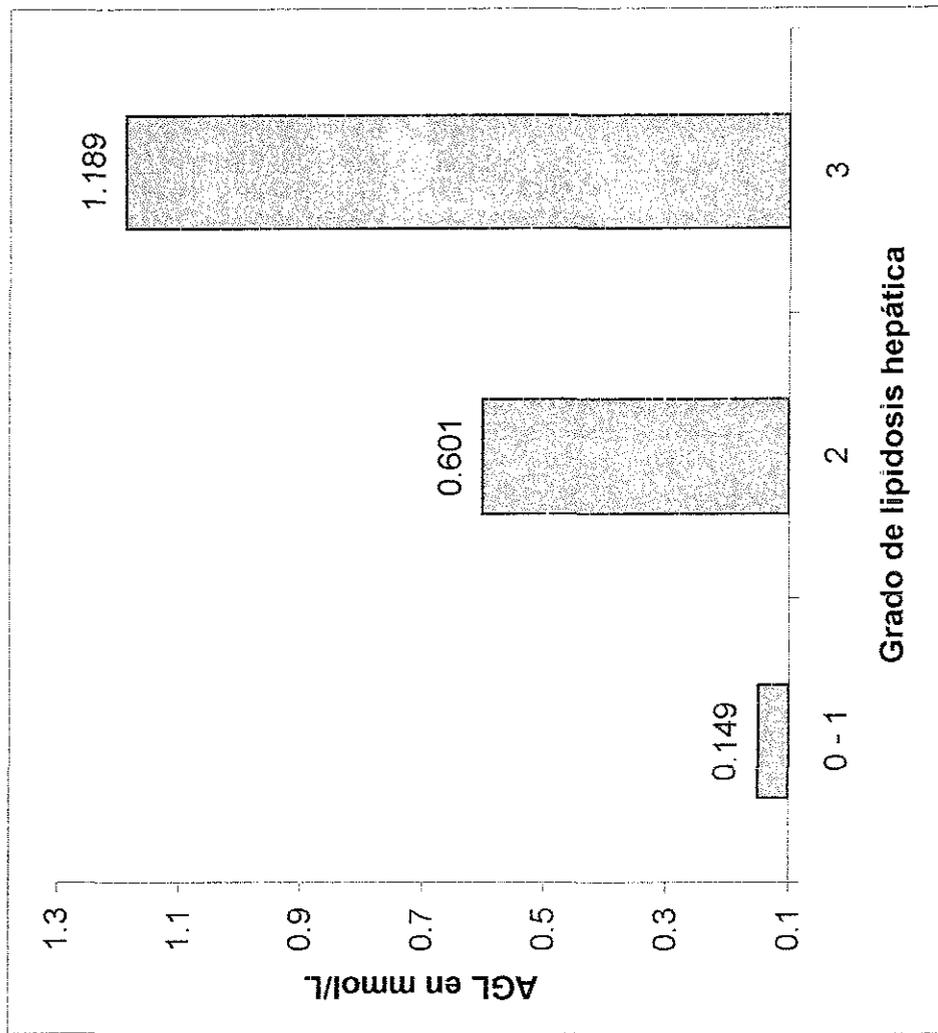


Figura 1. Valor de ácidos grasos libres (AGL) en mmol/L de acuerdo al grado de lipidosis hepática por medio de la evaluación histológica en vacas lecheras (n=20)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

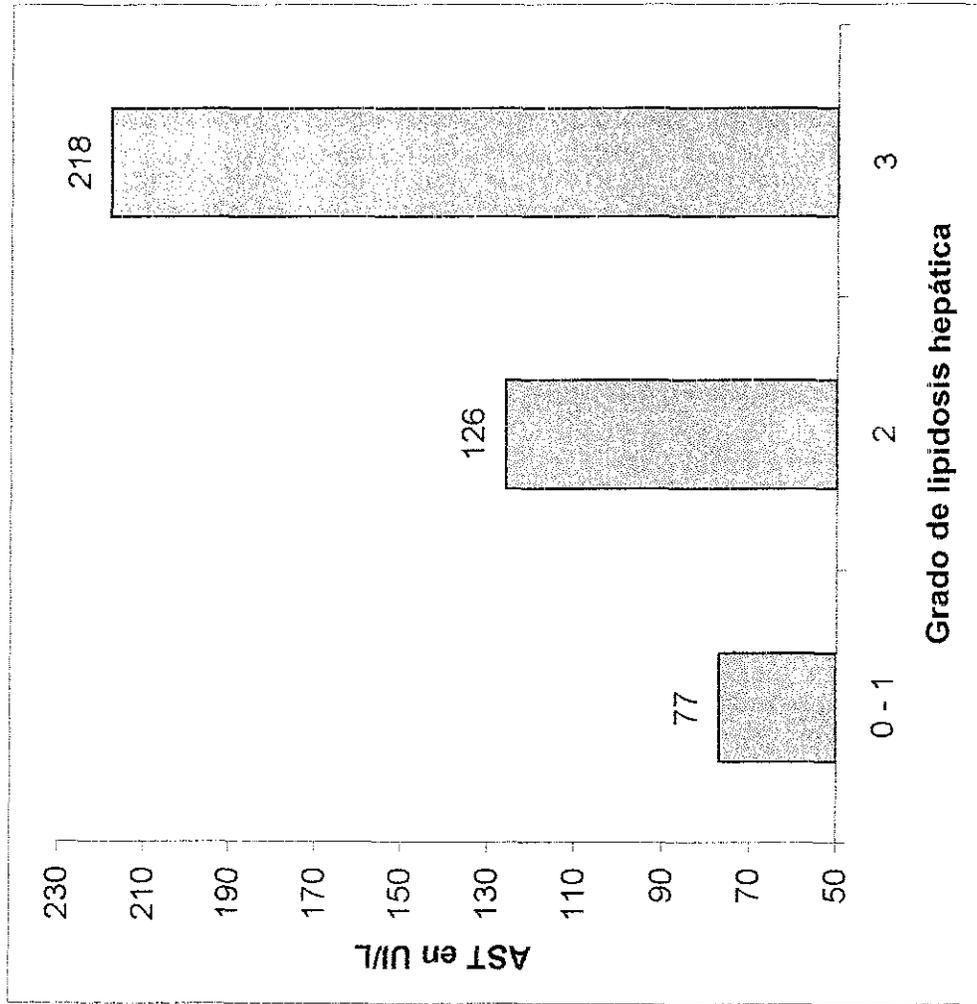


Figura 2. Valor de aspartato amino-transferasa (AST) en U/L de acuerdo al grado de lipodosis hepática por medio de la evaluación histológica en vacas lecheras (n=20)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

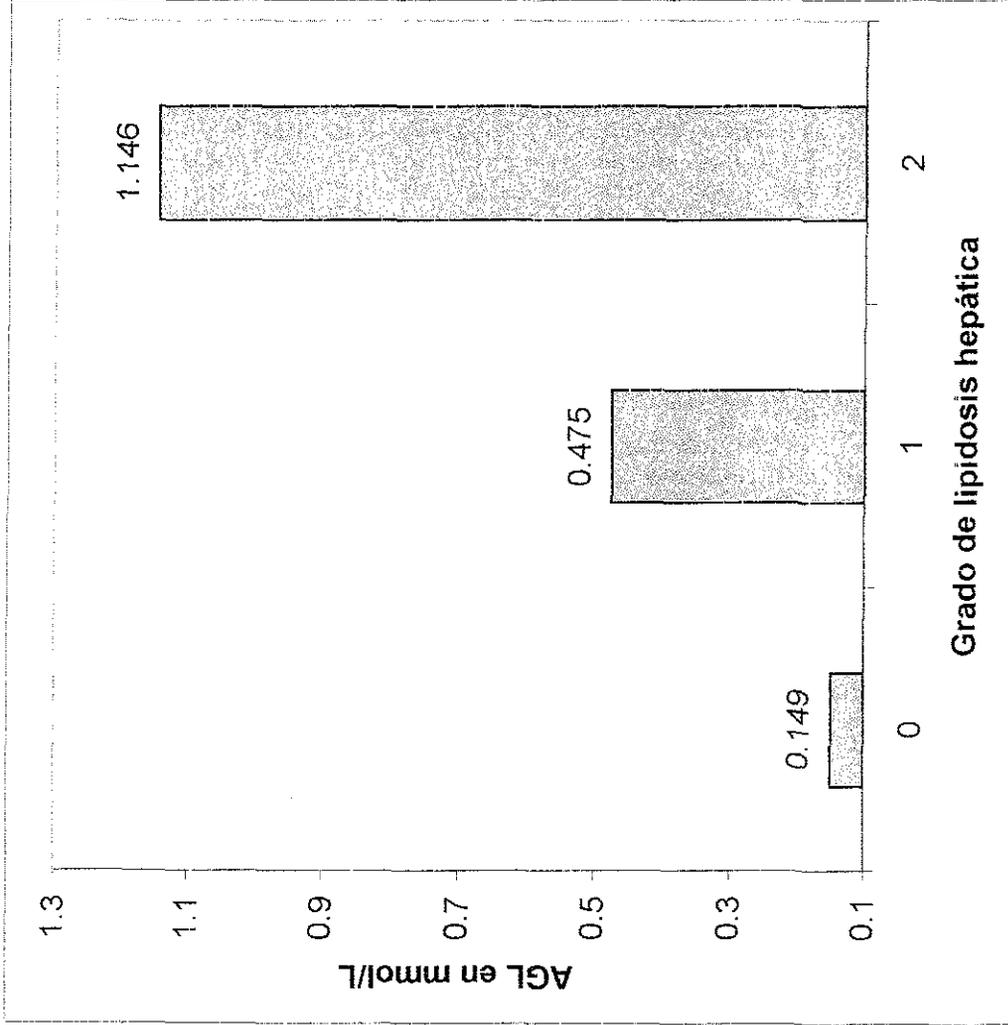


Figura 3. Valor de ácidos grasos libres (AGL) en mmol/L de acuerdo al grado de lipodosis hepática por medio de prueba de flotación en vacas lecheras (n=20)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

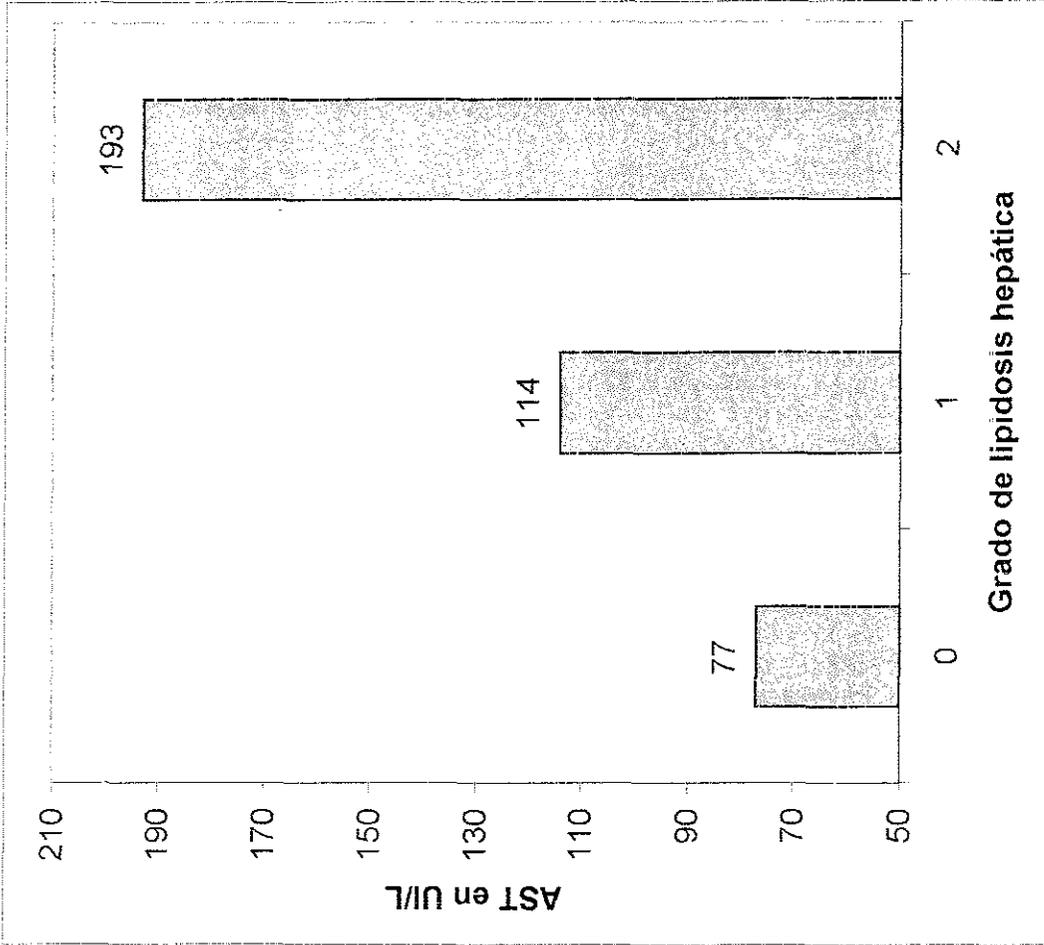


Figura 4. Valor de aspartato amino-transferasa (AST) en U/L de acuerdo al grado de lipidosi hepática por medio de prueba de flotación en vacas lecheras (n=20)

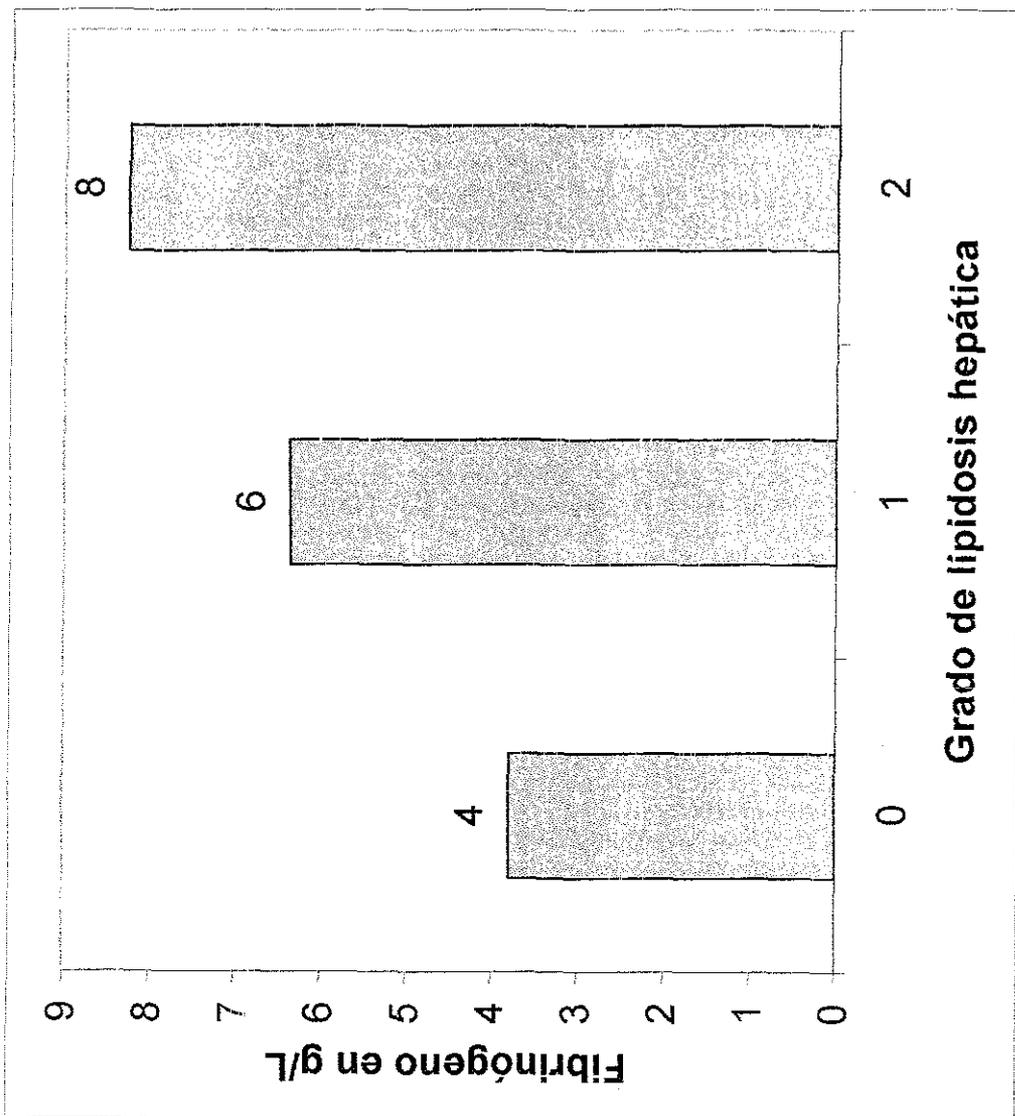


Figura 5. Valor de fibrinógeno en g/L de acuerdo al grado de lipodosis hepática por medio de prueba de flotación en vacas lecheras (n=20)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

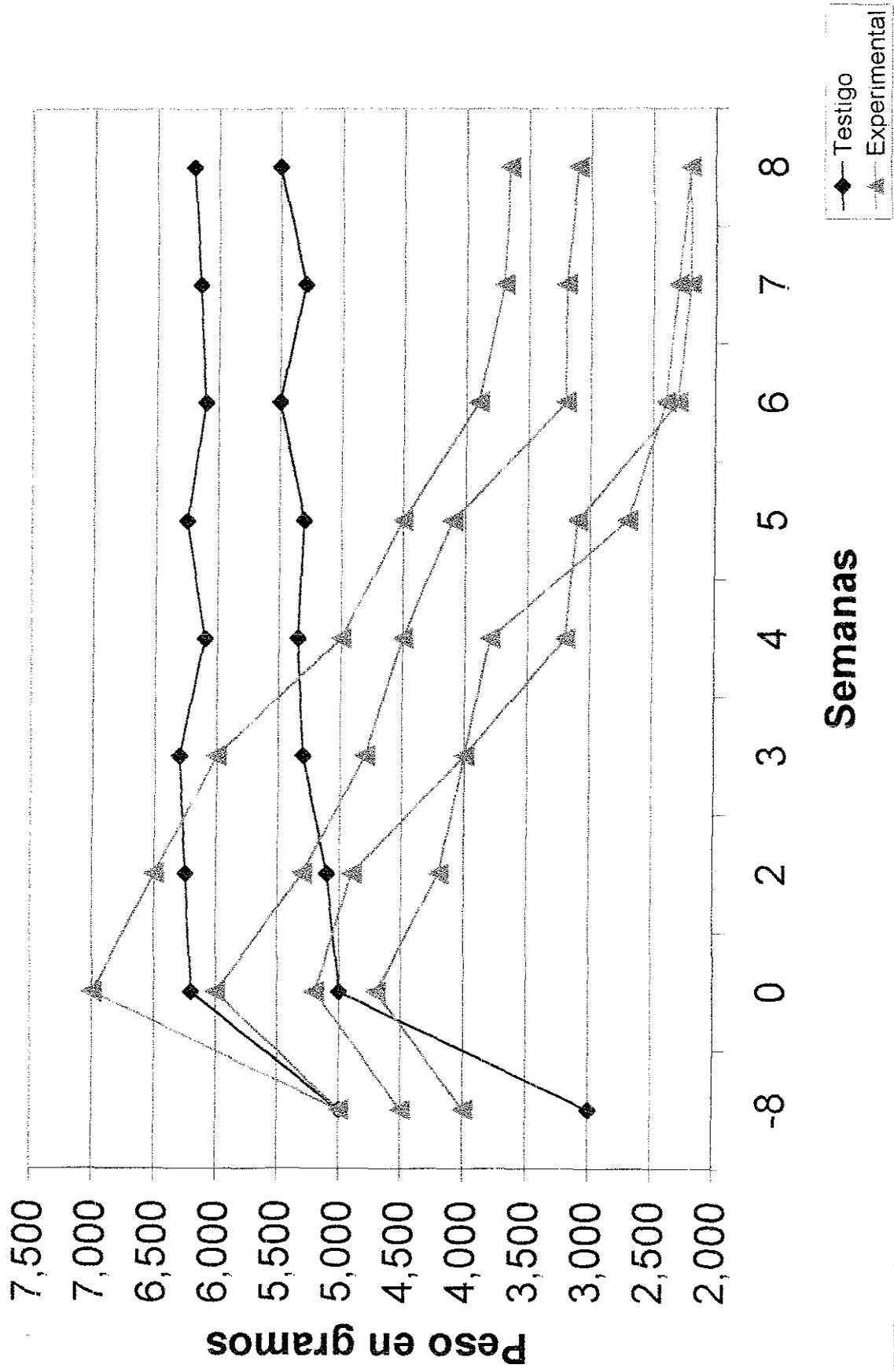


Figura 6. Peso en gramos de los gatos testigo y experimentales durante inducción de lipidosis hepática

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

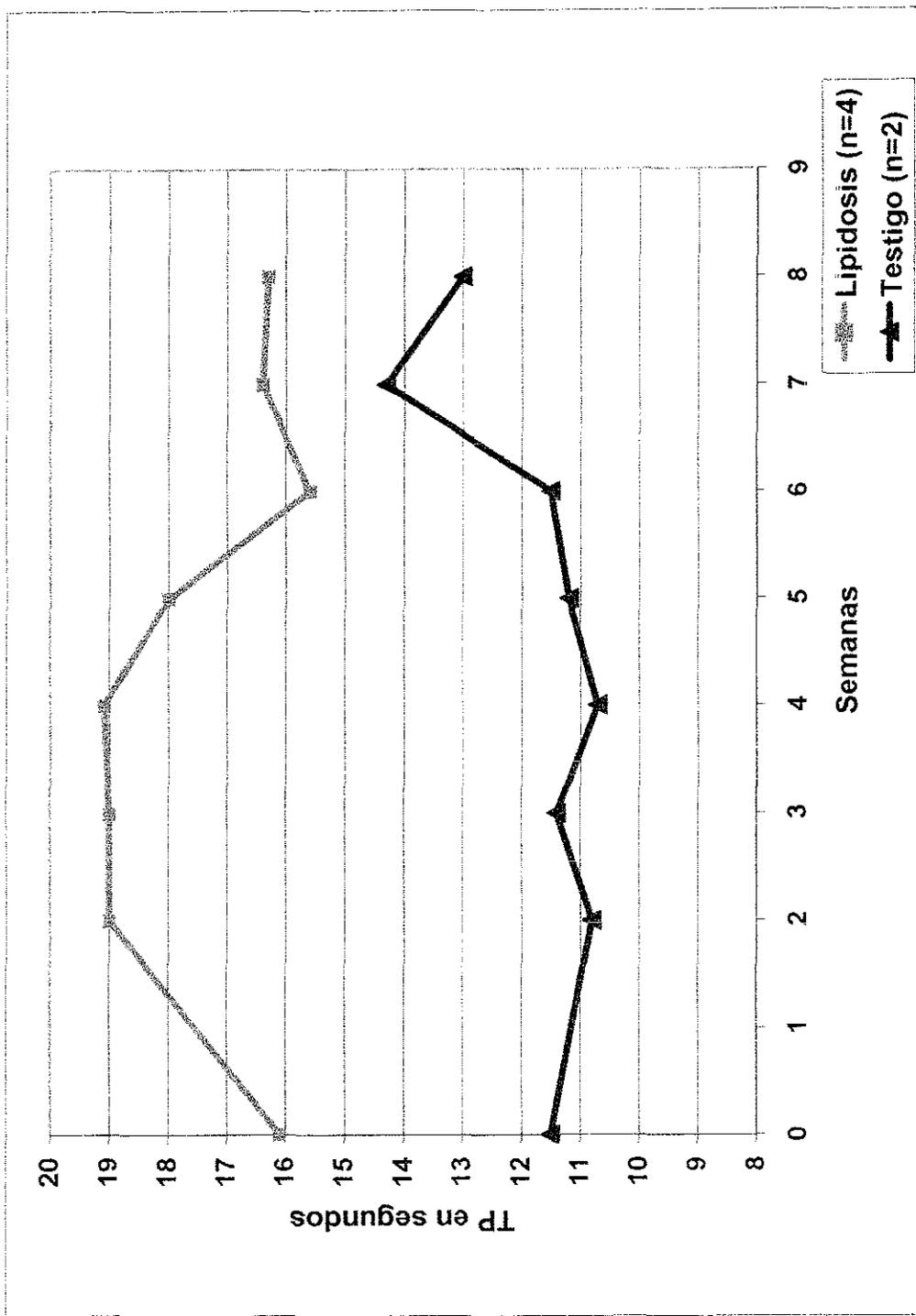


Figura 7. Valores medios del tiempo de protrombina (TP) en plasma al 50% en gatos (n=6)

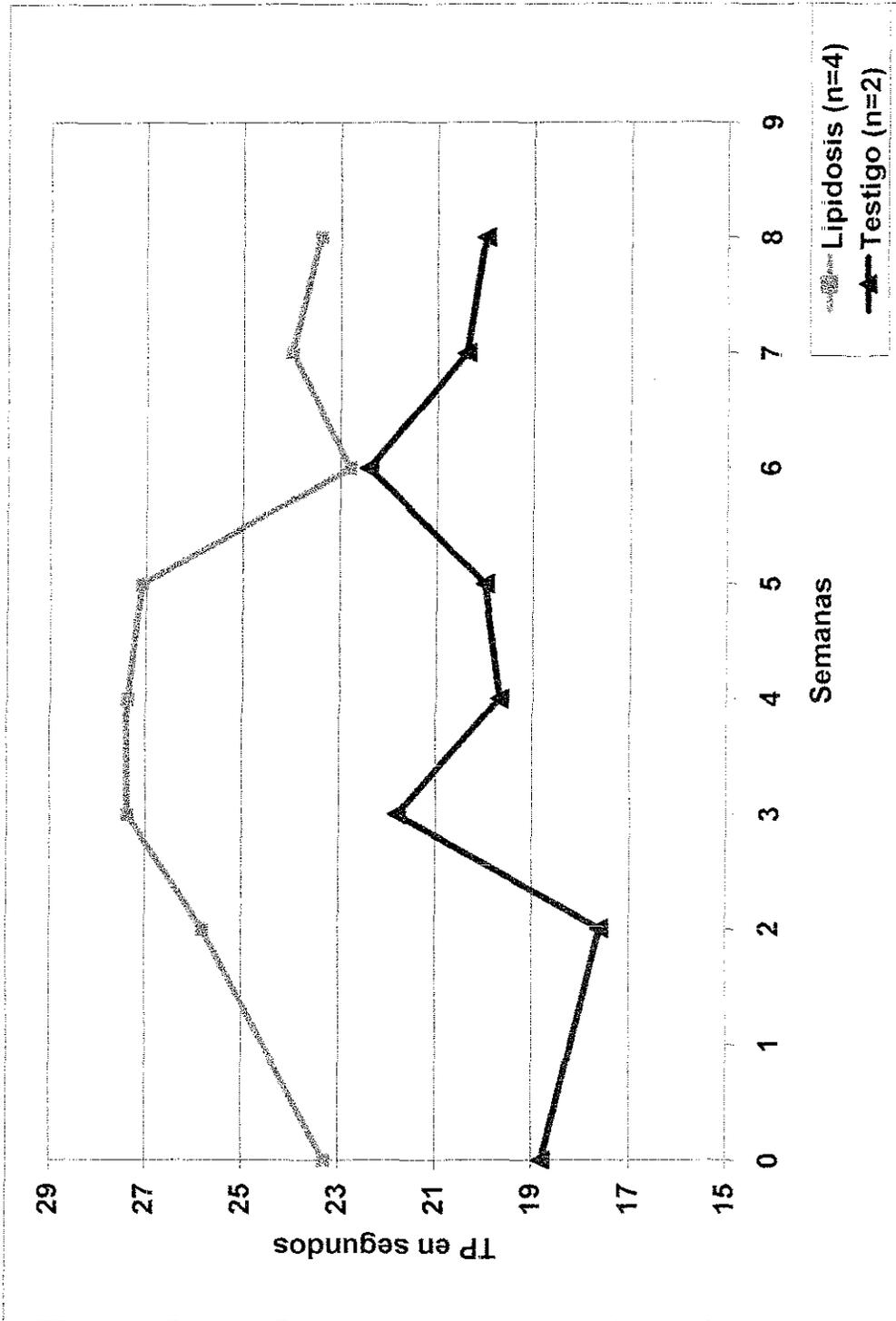


Figura 8. Valores medios del tiempo de protrombina (TP) en plasma al 25% en gatos (n=6)

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

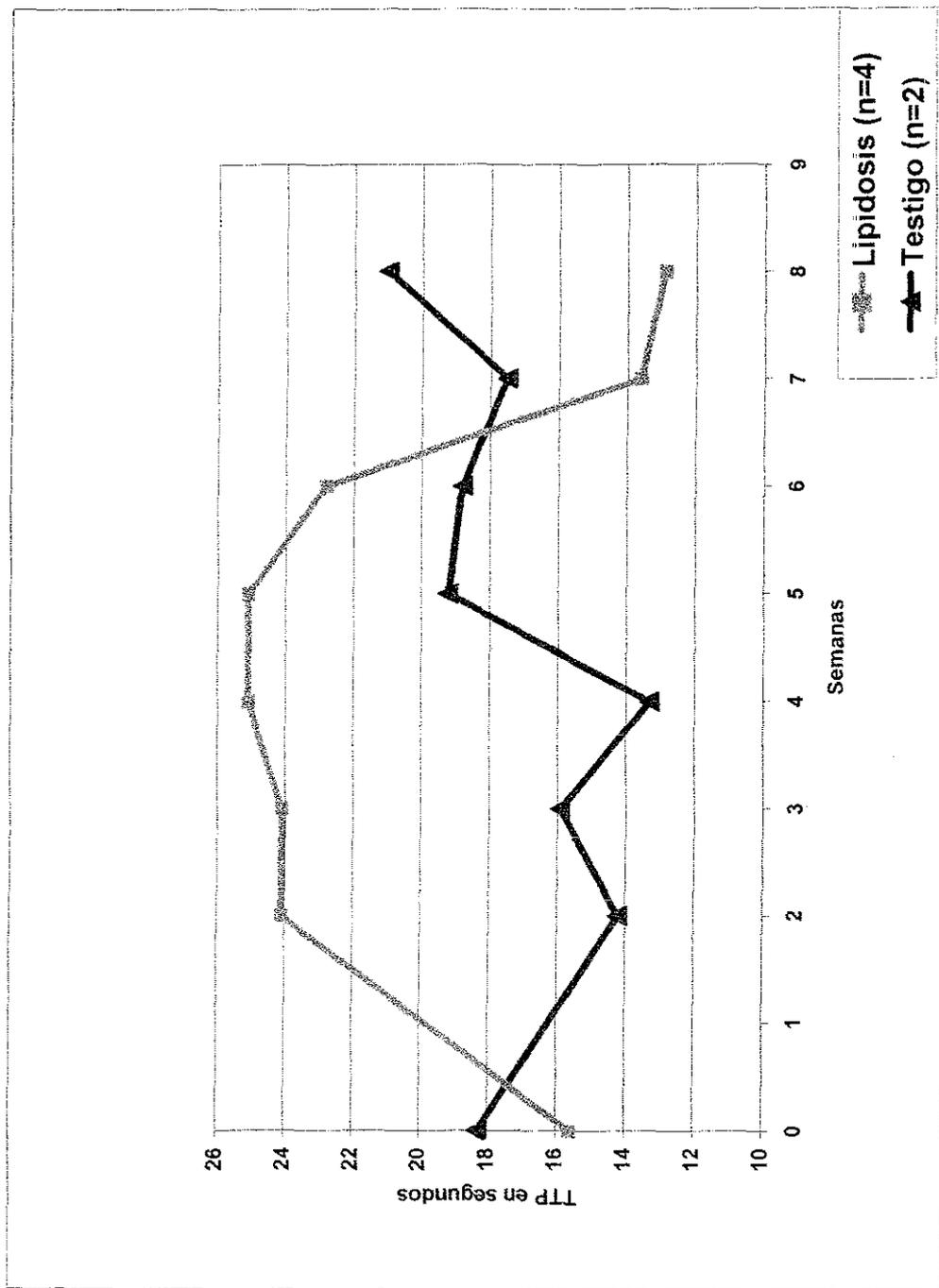


Figura 9. Valores medios del tiempo de tromboplastina parcial (TTP) en plasma al 100% en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN

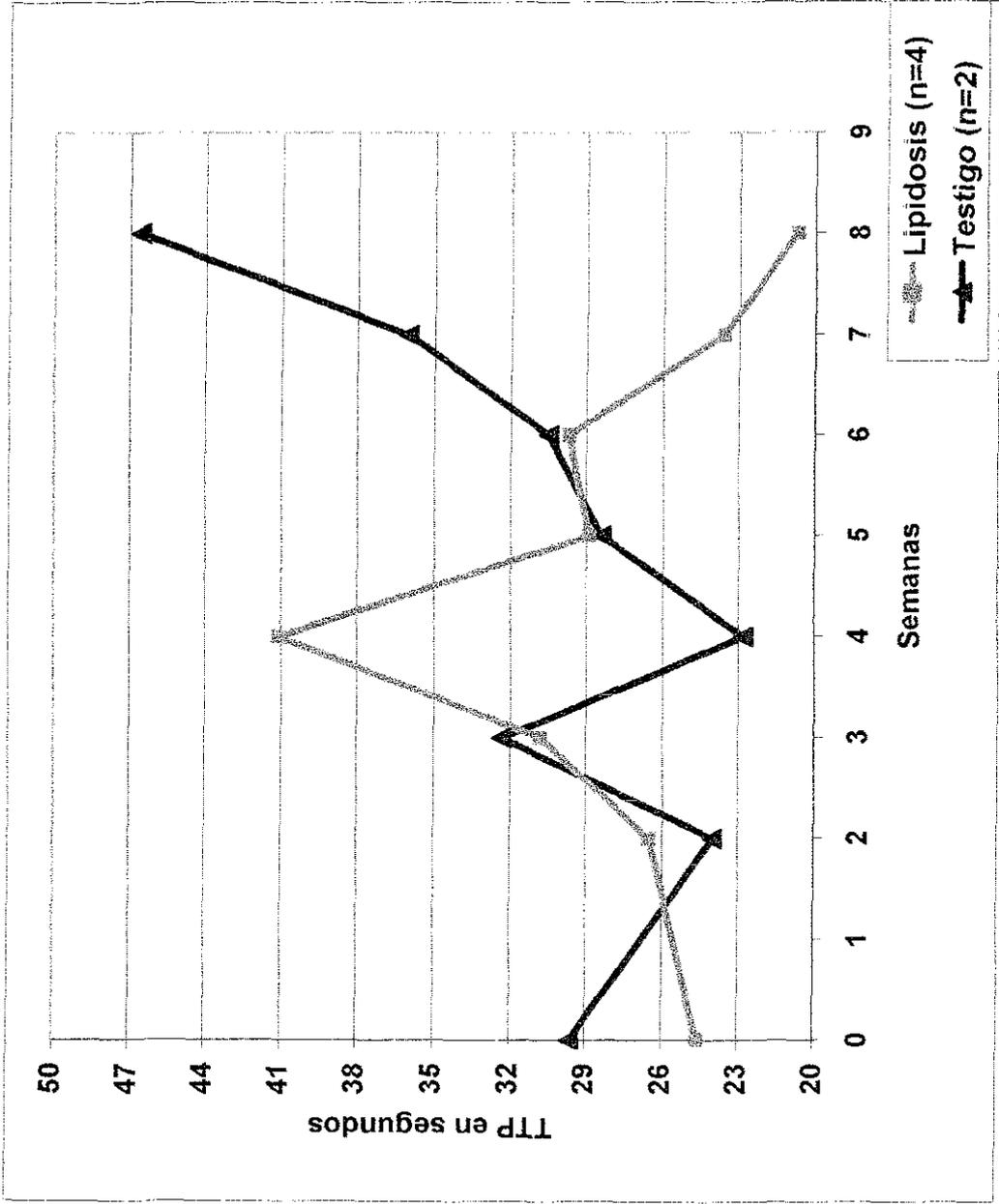


Figura 10. Valores medios del tiempo de tromboplastina parcial (TTP) en plasma al 50% en gatos (n=6)

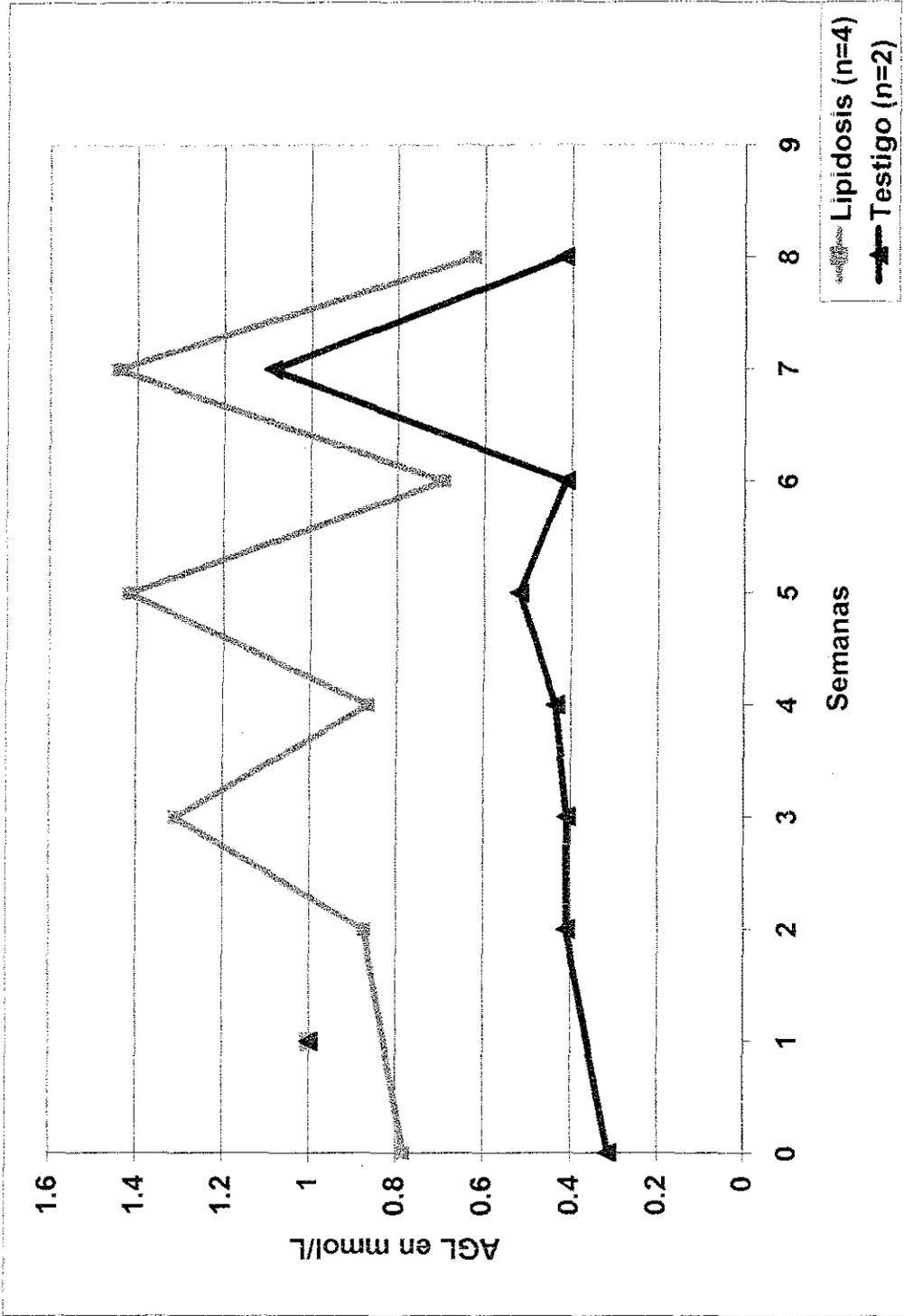


Figura 11. Valores medios de ácidos grasos libres (AGL) en mmol/L en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

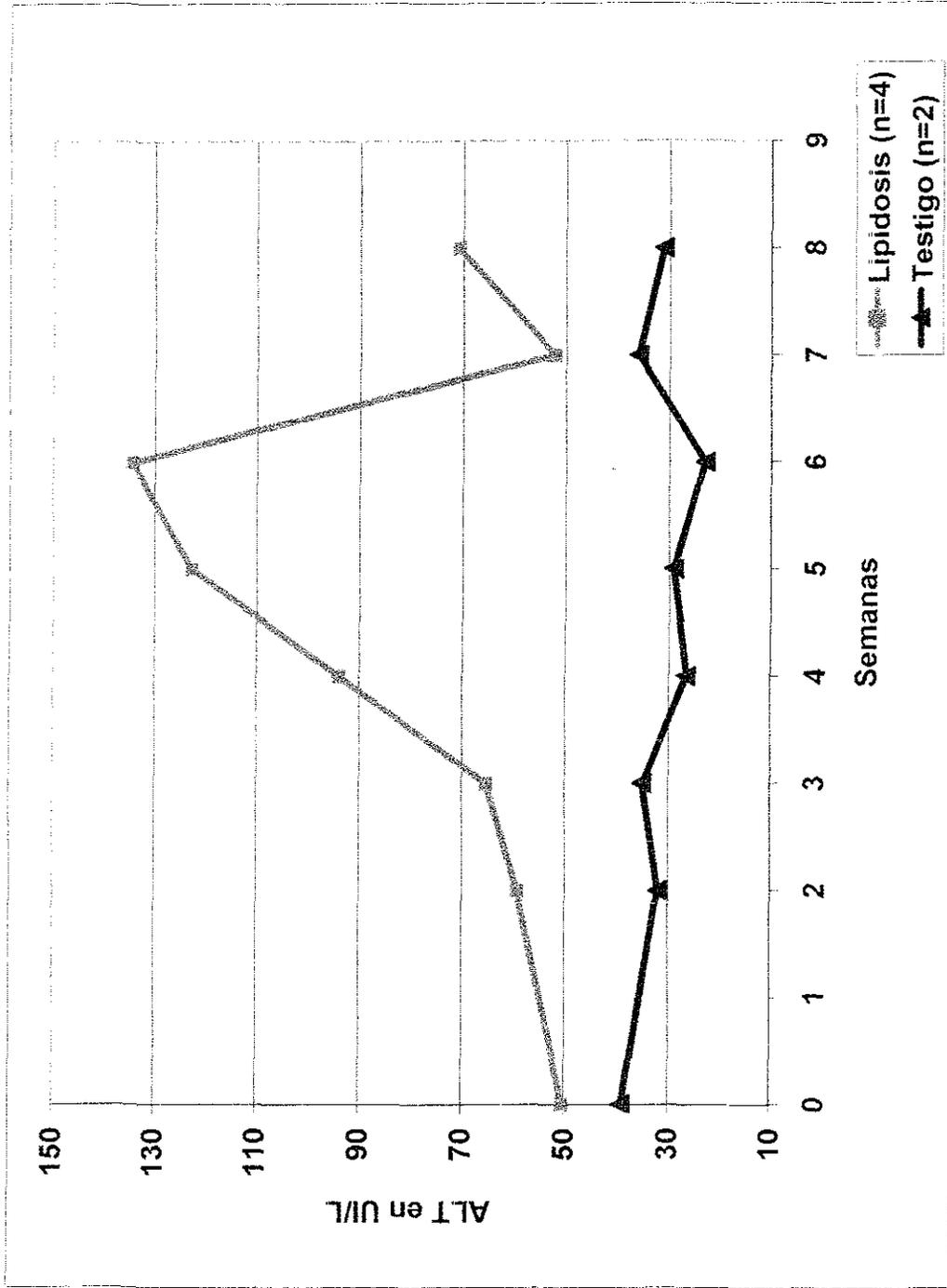


Figura 12. Valores medios de alanina amino transferasa (ALT) en U/L en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

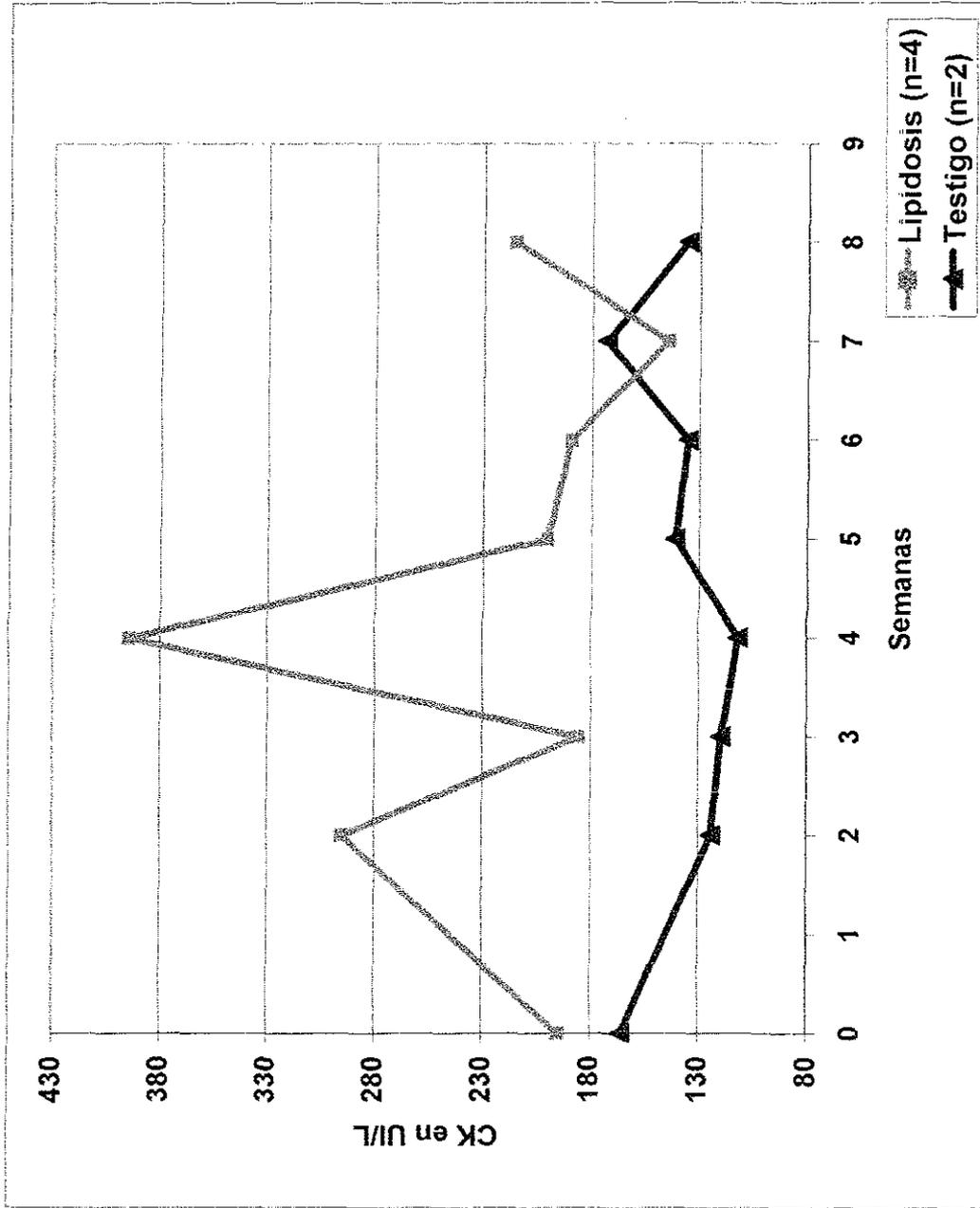


Figura 13. Valores medios de creatin cinasa (CK) en UI/L en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

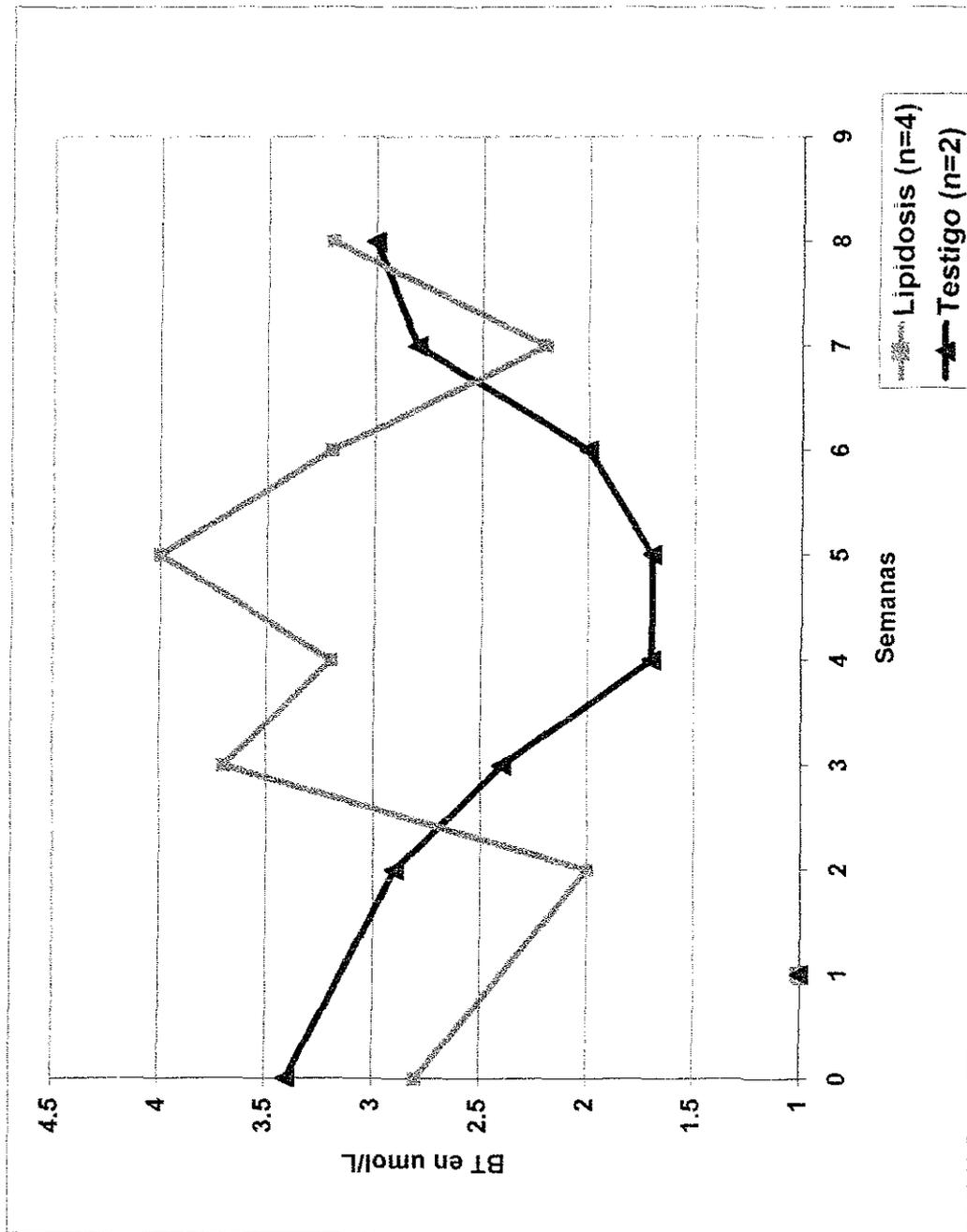


Figura 14. Valores medios de bilirrubina total (BT) en $\mu\text{mol/L}$ en gatos (n=6)

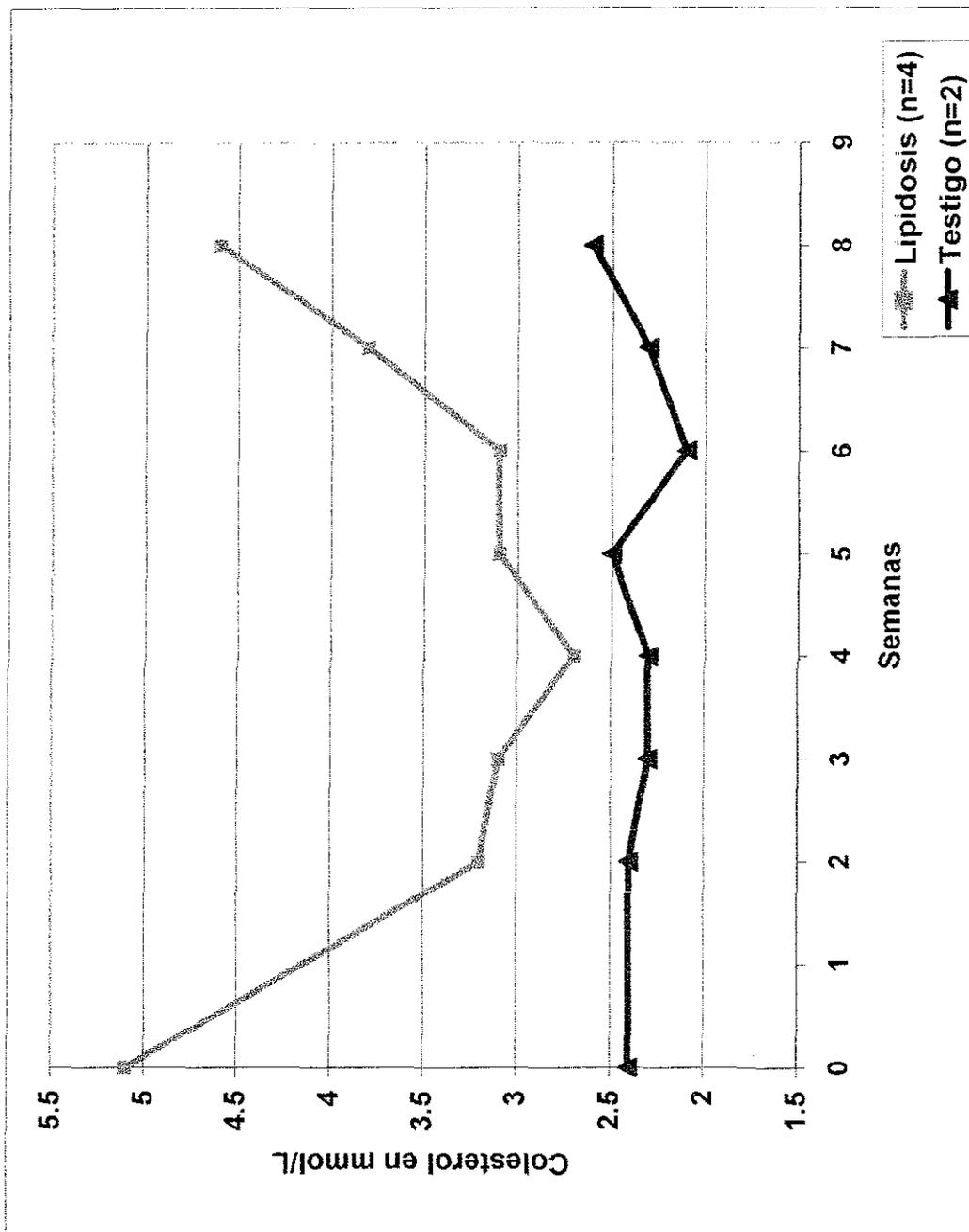


Figura 15. Valores medios de colesterol en mmol/L en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO FORMA PARTE DE LA RUTINA DE EVALUACION

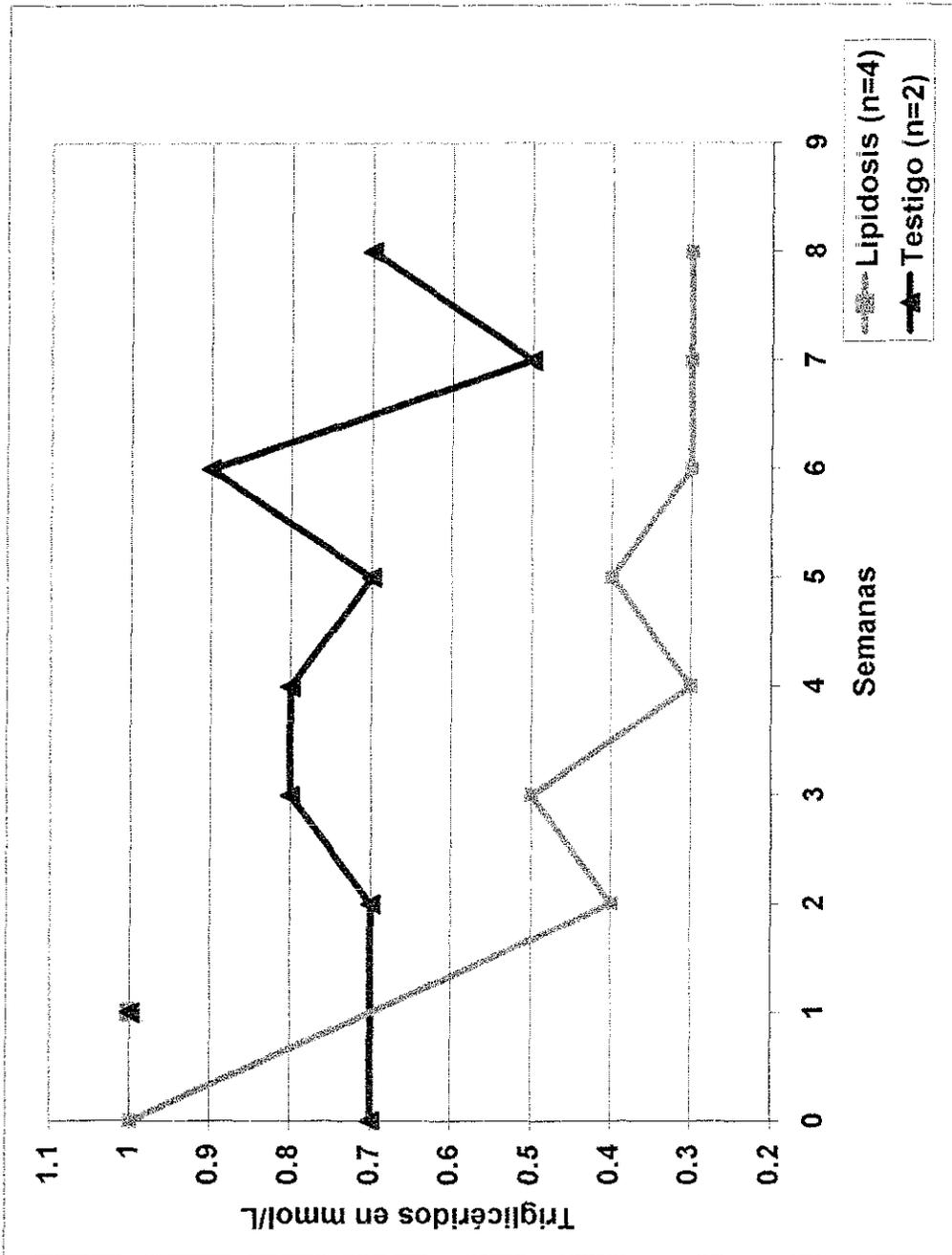


Figura 16. Valores medios de triglicéridos en mmol/L en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

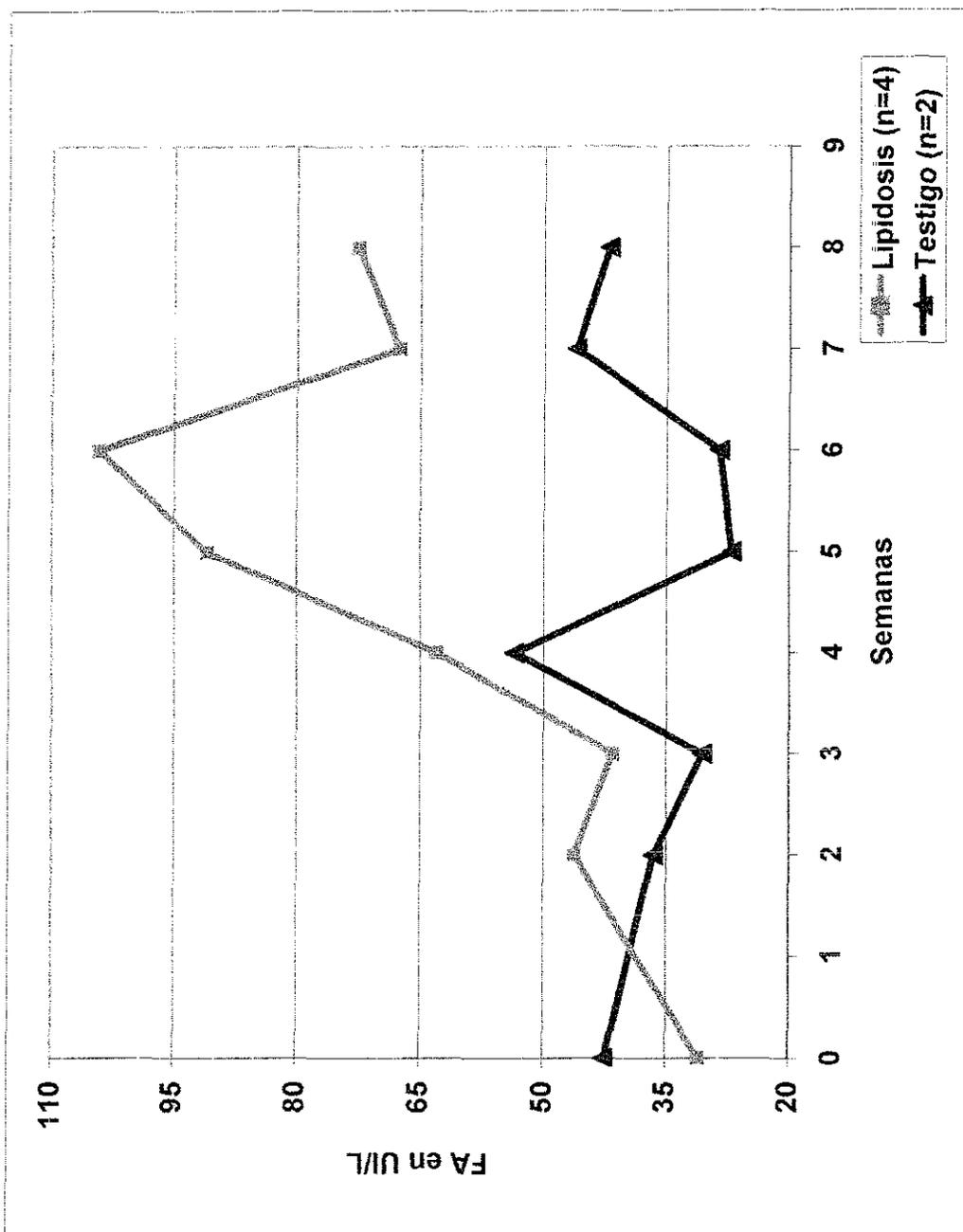


Figura 17. Valores medios de fosfatasa alcalina sérica (FA) en UI/L en gatos (n=6)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN