

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

“COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL TEST DE ESTIMULACIÓN DE ÁCIDOS BILIARES EN CANINOS SANOS Y CON PATOLOGÍAS VINCULADAS”

por

**DELGADO ECHENAGUSÍA, María Emilia
VARESE SANTANA, Martín Enrique
ZAÍNO MIGUENS, María Noel**

**TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias
(Orientación Higiene Inspección- Control de los Alimentos de origen animal)
(Orientación Medicina Veterinaria)**

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2012**

PAGINA DE APROBACIÓN

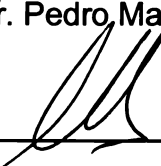
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



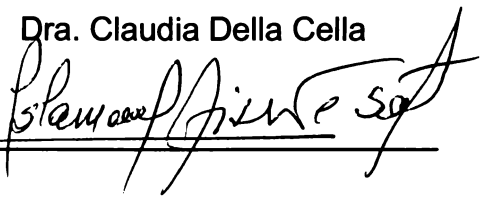
Dr. Pedro Martino

Segundo Miembro (Tutor):



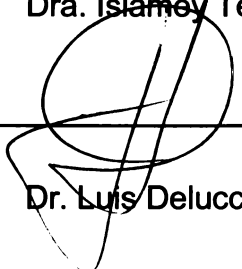
Dra. Claudia Della Cella

Tercer Miembro:



Dra. Islamey Tebot


Cuarto Miembro (Co-tutor):



Dr. Luis Delucchi


Fecha: 13/09/2012

Autores:



Br. María Emilia Delgado

FACULTAD DE VETERINARIA
Aprobado con ...07(su etc)...



Br. Martin Varese

Br. María Noel Zaíno

A mi mamá, mi papá y mis hermanos por su amor, apoyo y paciencia durante toda la
carrera.

A mis abuelos, Cuca y Hugo que me alentaron durante todos estos años y hoy me
acompañan y guían desde el cielo.

A mis amigas de toda la vida que estuvieron ahí siempre.

A mis amigos de facultad por su apoyo y compañerismo.

María Emilia Delgado.

A mi padre, a mi madre y a mi hermano por su apoyo a lo largo de toda mi vida,
sin ellos nada hubiera sido posible.

A Dios por ayudarme y guiarme por el buen camino día tras día.

Martin Varese.

A mi madre, a mi padre y a mi hermano por el apoyo incondicional, que permitieron
que esto sea posible.

A Eduardo por ser mi sostén y mi compañero de ruta.

A mis amigas por acompañarme a lo largo del camino.

María Noel Zaíno.

AGRADECIMIENTOS

A nuestra tutora Dra. Claudia Della Cella y a nuestro cotutor Dr. Luis Delucchi por darnos la posibilidad de realizar esta Tesis.

Al Dr. Pedro Martino por la realización de las pruebas de laboratorio y por estar todas las veces que lo necesitamos.

Al Dr. Alvaro Rodriguez, Dr. Nemetchek, y los enfermeros Jorge Celios y Patricia Villaverde por ayudarnos en la extracción de muestras.

A la Dra. Graciela Pedrana por su ayuda en el estudio de la histología del hígado.

Al Encargado del Hospital Veterinario de Facultad de Veterinaria Dr. Carlos Soto por permitir la realización del ensayo clínico en el Centro Hospital Veterinario.

Especial agradecimiento a todo el personal de biblioteca (Rosina Vilaró, Ruth, Alejandra, Jaqueline, Carolina, Gabriela, Julia, Patricia, Ana Carolina) por cumplir una excelente labor y ayudarnos con mucha paciencia durante todo nuestro trabajo.

Al Dr. José Piaggio por su invaluable ayuda en la realización del estudio estadístico.

Al Departamento de Nutrición Animal por su colaboración en el ensayo clínico poniendo a disposición los perros para extracción de muestras.

A Mercedes Macalusso y Lara Fernández por prestarnos a sus mascotas para el ensayo clínico.

A nuestros respectivos trabajos por facilitarnos los días libres necesarios para trabajar en el proyecto.

Al personal de Espacio Multifuncional y sala de computadoras TITANIC por dejarnos usar dichas máquinas para la realización de nuestro trabajo.

A la Profesora Cristina Camou y la Profesora Adjunta Carmen Silvia Gallo Muniz Encargada del Área de Inglés de Facultad de Veterinaria por colaborar en la traducción del Resumen.

A nuestras familias por todo el apoyo durante la realización del proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	4
ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	8
<u>RESUMEN</u>	9
<u>SUMMARY</u>	10
<u>INTRODUCCIÓN</u>	11
<u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	12
<u>EL HÍGADO</u>	12
<u>Definición</u>	12
<u>Situación</u>	12
<u>Estructura</u>	12
<u>Vascularización</u>	13
<u>Regeneración Hepática</u>	14
<u>Unidad estructural y funcional</u>	14
<u>El lobulillo portal</u>	15
<u>Acino hepático</u>	15
<u>El Hepatocito</u>	17
<u>Sistema de conducción biliar</u>	19
<u>Funciones metabólicas del Hígado</u>	19
<u>Síntesis y secreción</u>	19
<u>Transformación</u>	20
<u>Excreción</u>	20
<u>Inmunidad</u>	20
<u>Otras funciones</u>	20
<u>LA BILIS</u>	20
<u>Fosfolípidos</u>	21
<u>Colesterol</u>	21

<u>Los Ácidos Biliares</u>	21
<u>Circulación enterohepática y metabolismo de los Ácidos Biliares</u>	22
<u>Etapa hepática</u>	22
<u>Etapa vesicular</u>	23
<u>Etapa intestinal</u>	23
<u>Función de los ácidos biliares y su papel en la digestión de los lípidos</u>	24
PATOLOGIAS QUE CURSAN CON ALTERACIONES EN LOS NIVELES SÉRICOS DE ÁCIDOS BILIARES (ABS)	25
<u>Shunt Portosistémicos intrahepático y extrahepático</u>	26
<u>Encefalopatía hepática</u>	28
DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS BILIARES EN SUERO	29
<u>Indicaciones</u>	29
<u>Significancia clínica y utilidad diagnóstica en contraste con otras pruebas hepáticas</u>	29
<u>OBJETIVOS</u>	34
OBJETIVOS GENERALES.....	34
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
<u>HIPÓTESIS</u>	35
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	36
<u>Diseño Experimental</u>	36
<u>Extracción y Preparación de Muestras</u>	37
<u>Determinación Sérica de Ácidos Biliares</u>	38
<u>Principio del ensayo</u>	39
<u>Procedimiento</u>	40
<u>Análisis estadístico</u>	40
<u>RESULTADOS</u>	41
<u>DISCUSIÓN</u>	43
<u>CONCLUSIONES</u>	46
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	47
<u>ANEXOS</u>	51

ABREVIATURAS

Ácidos Biliares (ABs)

Alanino amino transferasa (ALT)

Aspartato amino transferasa (AST)

Colecistoquinina (CCK)

Encefalopatía hepática (EH)

Fostatasa alcalina sérica (FAS)

Gamma glutamil transferasa (GGT)

Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)

Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Sistema retículo endotelial (SRE)

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla I. Clasificación de patologías que cursan con alteraciones en los niveles de ABS.....	25
Tabla II. Clasificación de patologías que cursan con alteraciones en los niveles de ABS.....	25
Tabla III. Datos de pacientes enfermos.....	36
Tabla IV. Reactivos utilizados en la determinación cuantitativa de los Ácidos Biliares Totales.....	39
Tabla V. Condiciones del ensayo.....	40
Tabla VI. Resultados de laboratorio de las muestras pre y postprandiales procesadas de la población canina sana pre y post prandial ($\mu\text{mol/L}$).....	41
Tabla VII. Resultados de laboratorio de las muestras pre y postprandiales procesadas en la población de caninos con diagnóstico presuntivo de patologías hepáticas anictéricas y otras patologías vinculadas ($\mu\text{mol/L}$).....	42
Tabla VIII. Comparación de las medias y desvíos obtenidos en el grupo de caninos sanos y caninos enfermos ($\mu\text{mol/L}$).....	42
Tabla IX. Tabla de Información Nutricional de alimento a/d.....	51
Tabla X. Energía metabolizable del alimento a/d.....	52
Figura 1. Vascularización del Hígado.....	13
Figura 2. Estructuras anatómicas y funcionales del hígado.....	15
Figura 3. Representación esquemática del Acino Hepático.....	16
Figura 4. Esquema de un hepatocito.....	18
Figura 5. Estructura química de los Ácidos Biliares primarios y secundarios.....	21
Figura 6. Diagrama sobre la circulación enterohepática normal de los Ácidos Biliares.....	24
Figura 7. Representación de Shunt Portosistémicos Congénitos.....	28
Figura 8. Extracción de muestra pre prandial.....	37
Figura 9. Administración de alimento a/d.....	38
Figura 10. Muestras de sangre pre y post prandial.....	38
Figura 11. Valores de referencia de Laboratorio Idexx.....	53

RESUMEN

Las enfermedades hepáticas anictéricas y patologías vinculadas representan un desafío muy importante para el clínico veterinario debido a que los análisis de rutina, como en el caso del enzimograma hepático no detecta alteraciones en la funcionalidad de dicho órgano. Las concentraciones séricas pre y post prandiales de Ácidos Biliares se consideran la determinación más sensible y específica para diagnosticar éstas patologías. Los propósitos de la presente Tesis fueron a) utilizar la variación de los niveles de Ácidos Biliares como una herramienta en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas y patologías vinculadas, b) estandarizar dicho método para poder ofrecer a los pacientes con diagnóstico presuntivo de patologías hepáticas primarias anictéricas este nuevo método diagnóstico en el Centro Hospital Veterinario. Los objetivos específicos fueron: determinar los niveles de Ácidos Biliares séricos pre y post prandiales en caninos sanos así como también en caninos con sospecha de enfermedad hepática primaria anictérica u otras patologías vinculadas en busca de obtener los propios valores de referencia del laboratorio de Facultad de Veterinaria.

Para el ensayo se utilizaron un grupo de 8 animales clínicamente sanos y otro grupo de 6 animales enfermos que asistieron a la consulta de gastroenterología del Centro Hospital Veterinario entre 2011 y 2012. A dichos animales se les realizó el Test de Estimulación de Ácidos Biliares séricos pre y post prandiales. Luego de 12 horas de ayuno se les realizó una extracción de sangre y se les administró 40 gramos (44.87 Kcal de Energía Metabolizable) de a/d de Hills y dos horas después se obtuvo una nueva muestra de sangre.

Las medias obtenidas en los animales sanos fueron $9.825 \pm 6.662 \mu\text{mol/L}$ para muestras pre prandiales y $9.887 \pm 7.868 \mu\text{mol/L}$ para muestras post prandiales. En los animales enfermos la media preprandial fue de $41.05 \pm 66.185 \mu\text{mol/L}$ y la post prandial de $62.233 \pm 90.233 \mu\text{mol/L}$. El poder de la prueba se ubicó en 18,74%.

En conclusión, el Test de Estimulación de Ácidos Biliares, tiene real valor siempre que se utilicen 2 muestras, una muestra en ayunas y otra muestra post prandial, esto mejora la sensibilidad de la prueba. Esta prueba debería repetirse en el tiempo, debido a que las hepatopatías son un proceso dinámico y el Test de Estimulación de Ácidos Biliares evalúa un momento determinado de la enfermedad.

SUMMARY

Anicteric Liver diseases and related diseases are an important challenge for the veterinary clinic because routine analysis like hepatic enzyme values does not detect function alterations of the organ. Pre and post prandial total serum bile acid concentrations are the most specific and sensitive determinations for the diagnosis of these kinds of diseases. The purposes of this Thesis were: a) to use the variation of bile acid levels for the diagnosis of hepatic diseases and related pathologies b) standardize this method to offer the patients with presumptive diagnosis of anicteric primary liver diseases this new method of diagnosis in the Veterinary Hospital of the Facultad de Veterinaria. The specific objectives were: i) define pre y post prandial serum bile acid levels in healthy dogs as well as in dogs suspected of anicteric primary liver disease or other related diseases searching for the own reference values at the laboratory of the Facultad de Veterinaria.

8 healthy dogs and 6 sick dogs who were patients of the gastroenterology clinic at the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine in the years 2011 and 2012 were tested. Pre and postprandial total serum bile acid levels were performed in those animals. After 12 hours of fasting, we took a blood sample and then the animals were given 40 grams (44.87 kcal metabolizable energy) of Hill's a/d, 2 hours later we took a new blood sample.

Although the number of animals was small we can conclude that just one sample of serum bile acid levels has no diagnostic value, pre-prandial and post prandial samples are always needed. It is important to consider that this test is useful for the diagnosis of liver diseases if used in combination with other diagnostic tests.

The means obtained in healthy animals were $9.825 \pm 6.662 \mu\text{mol} / \text{L}$ for samples preprandial and $9.887 \pm 7.868 \text{ mol} / \text{L}$ for postprandial samples. the post prandial $62.233 \pm 90.233 \text{ micromol} / \text{L}$. The power of the test was at 18.74%.

It was concluded that the Bile Acid Stimulation Test has a real value if using 2 samples, a fasting sample and another sample post prandial, this improves the sensitivity of the test. This test should be repeated over the time, because hepatopathies are a dynamic process and the Bile Acid Estimulation Test assesses a specific time of the disease.

INTRODUCCIÓN

En el canino, como en la mayoría de las especies animales, el hígado es de vital importancia debido a su participación en procesos de biosíntesis y biodegradación; por lo que es trascendente comprender y conocer su estado fisiológico, para llegar a un diagnóstico temprano de las hepatopatías. Sus funciones metabólicas son diversas, en el metabolismo del colesterol, aproximadamente el 80 por ciento se convierte en Ácidos Biliares que se secretan en la bilis, y el resto se convierte en lipoproteínas (González, 1995).

La síntesis de Ácidos Biliares primarios tiene lugar exclusivamente en los hepatocitos a partir del colesterol y posteriormente se conjugan con diversos aminoácidos, principalmente con taurina y en menor grado con glicina. Una vez ocurrida la conjugación son secretados por los canalículos biliares hacia la bilis. La bilis es elaborada por el hígado y se compone 97,5 gr/dl de agua y 2,5 gr/dl de solutos, siendo los principales los Ácidos Biliares (ABs), el colesterol, fosfolípidos y pigmentos biliares. Posteriormente se almacenan en la vesícula biliar y al ingerir alimentos, especialmente aquellos que son ricos en grasas, son liberados a la luz intestinal por la contracción de la vesícula, que es mediada por la acción de la colecistoquinina secretada por la mucosa duodenal (Guyton y Hall, 2011).

Por su naturaleza anfipática los ABs son esenciales para solubilizar los lípidos de la dieta y posteriormente son reabsorbidos casi en su totalidad por el intestino delgado, particularmente en el íleon. La síntesis de ABs se encuentra regulada por un mecanismo de retroalimentación negativa, son extraídos de la sangre y vuelven al hígado por la circulación portal. Durante todo el ciclo enterohepático, tan solo un dos a cinco por ciento de los ABs se pierden en las heces (González, 1995).

La eficiencia e integridad de la circulación enterohepática se ve reflejada en el nivel de ABs circulantes, siendo útiles como indicadores de disfunción hepática, cualquier disminución en la eficiencia de extracción debido a la disminución del flujo sanguíneo hepático o daño hepatocelular va a incrementar la concentración sistémica de ABs.

Se debería incluir el Test de Estimulación de ABs en aquellos pacientes que presentan alteraciones en el comportamiento, ceguera transitoria, convulsiones, coma o anomalías en el sistema nervioso central. Las enfermedades hepáticas congénitas, como los Shunts portosistémicos pueden ocasionar Encefalopatía hepática. Las concentraciones séricas pre y post prandiales de ABs, parecen ser la determinación más sensible y específica para diagnosticar ésta patología.

EL HÍGADO

Definición

El hígado es un órgano parenquimatoso friable situado en la porción intratorácica de la cavidad abdominal, en la parte más craneal inmediatamente detrás del diafragma. Desempeña un papel muy importante para todos los vertebrados, cumpliendo funciones esenciales para la vida. Entre ellas contribuye al mantenimiento de la homeostasis debido a su participación en procesos de biosíntesis y biodegradación de gran importancia para el organismo, además, es la glándula secretora mixta más voluminosa, produciendo la bilis, que es una secreción que facilita la absorción intestinal de grasas y vitaminas liposolubles y permite la eliminación de productos del catabolismo, como la bilirrubina (González, 1995; Dyce y col., 1999; König, y col., 2005).

También cumple importantes funciones en el metabolismo de proteínas, carbohidratos y grasas. En él los nutrientes absorbidos son procesados y almacenados para ser utilizados por el organismo, por lo cual es una interfaz entre el sistema digestivo y la sangre (Dyce y col., 1999; Junqueira y Carneiro, 2006).

En cuanto al peso, existen grandes diferencias según la especie, para el perro los valores medios son de alrededor del 3 al 4 por ciento de su peso corporal (González, 1995).

Situación

El hígado se ubica caudal al diafragma. Se localiza debajo del arco costal y topográficamente se extiende cranealmente hasta la séptima costilla. En el lado derecho el órgano se encuentra totalmente protegido por la caja torácica en su parte lateral, pero en el lado izquierdo el lóbulo lateral izquierdo se extiende ligeramente a través del borde caudoventral del arco costal. Por lo tanto esta área se encuentra disponible para la palpación, excepto en perros obesos y musculosos cuya condición corporal dificulta esta tarea (Simpson y Else, 1991).

El hígado es un órgano multilobulado con forma de medialuna y convexo cranealmente contra el diafragma. En general se divide en lóbulos izquierdo y derecho que están subdivididos en lóbulos lateral y medial. En el perro y en el gato se encuentra un lóbulo cuadrado y otro caudado, este último ensanchado por los procesos papilar y caudado (Simpson y Else, 1991; Dyce y col., 1999).

Estructura

El hígado está recubierto por el peritoneo, que cubre una delgada capa el tejido conjuntivo denominada cápsula de Glisson. El tejido conjuntivo se introduce en forma de tabiques entre los lobulillos hepáticos y los separa unos de otros. En el perro los lobulillos hepáticos son fácilmente reconocibles como áreas hexagonales de 1 milímetro aproximadamente (König y col., 2005; Geneser, 2006).

Vascularización

La irrigación del hígado es muy rica. La sangre oxigenada es aportada por la arteria hepática, que es una rama de la arteria celíaca. La vena porta es el vaso funcional, lleva al hígado la sangre de los órganos impares de la cavidad abdominal como intestino, páncreas, bazo y estómago (ver figura 1). Esta sangre es rica en sustancias nutritivas pero pobre en oxígeno. Dentro de las sustancias que llegan al hígado encontramos los factores tróficos. Éstos son importantes para el mantenimiento del tamaño hepático normal y para su regeneración posresección. Los factores hepatotróficos producidos en las vías digestivas y necesarias para el hígado se pierden en el flujo sanguíneo derivado, por lo que los cortocircuitos en la circulación portal, ocasionan microhepatía. Los factores hepatotróficos portales son hormonas generadas en órganos esplácnicos y presentados directamente al hígado, otros son elaborados por el propio órgano. El flujo sanguíneo normal y la llegada de nutrientes del tubo digestivo también actúan como factores hepatotróficos. La exclusión de alguno de los factores mencionados causan atrofia hepática, lo que también se observa en casos de inanición prolongada, así como en la exclusión del flujo portal desde el páncreas (Strombeck y Juilford, 1995).

Tanto la arteria hepática como la vena porta entran por el hilio junto con el conducto hepático común y vasos linfáticos. Dentro del hígado se subdividen y penetran junto con el tejido conjuntivo hacia el interior del órgano ramificándose en arteriolas y vénulas que atraviesan como capilares los lobulillos. Finalmente los sistemas arteriales y venosos se unen y desembocan en los capilares sinusoides, llevando una mezcla de sangre arteriovenosa que converge hacia el centro del lóbulo en la vena central. La vena central al ir recibiendo cada vez más capilares sinusoides va aumentando de tamaño uniéndose a la vena sublobular al abandonar el lóbulo. Las venas sublobulares se unen formando dos o más venas hepáticas grandes que salen del hígado por su cara diafragmática y desembocan en la vena cava inferior. (König y col., 2005; Junqueira y Carneiro, 2006; Geneser, 2006).

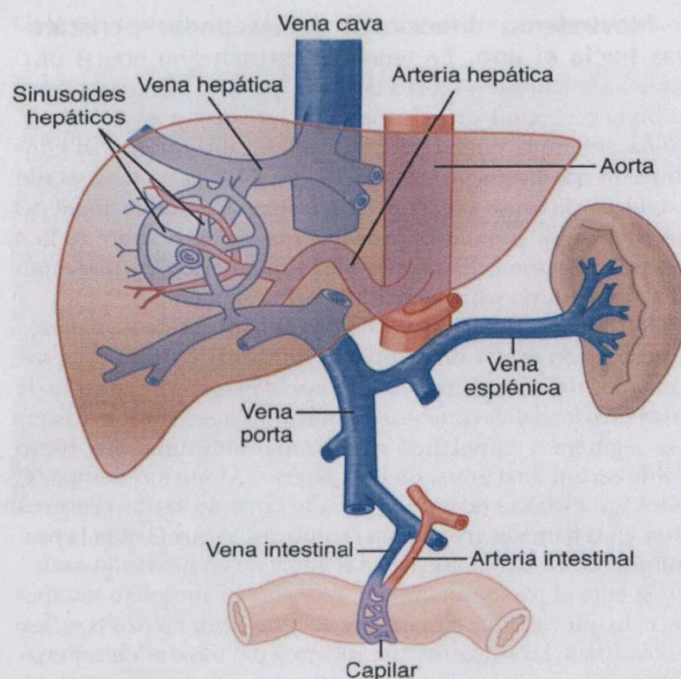


Figura 1. Vascularización del Hígado (Fuente: Guyton y Hall, 2011).

Regeneración hepática

En condiciones normales, el parénquima hepático tiene una alta capacidad de regeneración, debido a que los hepatocitos no presentan diferenciación terminal y pueden ser activados en respuesta al daño tisular. La regeneración hepática depende de muchos factores. El factor de crecimiento epidérmico, un complejo albúmina-bilirrubina, glucocorticoides, y tiroxina actúan directamente. Las catecolaminas, la calcitonina, la parathormona y otros péptidos hormonales actúan indirectamente. Los agentes humorales transmitidos a los hepatocitos restantes a través de la circulación incluyen sustancias que llegan al hígado por la circulación portal como la insulina, el glucagón y nutrientes como los aminoácidos (Strombeck, y Juilford, 1995).

Unidad estructural y funcional

El hígado tiene diferentes divisiones estructurales y funcionales (ver figura 2), la más utilizada es aquella que define al lobulillo hepático (cuyo componente fundamental es el hepatocito) como unidad morfológico-estructural del hígado (Stinson y Calhoun, 1994; Junqueira y Carneiro, 2006; Geneser, 2006).

Como unidades funcionales aparecen el lobulillo portal y el acino hepático (Stinson y Calhoun, 1994).

La unidad estructural del hígado es el lobulillo hepático, que tiene forma hexagonal y está delimitado por tejido conectivo, se define como el grupo de células y vasos delimitados por las venas porta, arterias hepáticas y conductos biliares, con la vena central en su centro. En las esquinas de cada lobulillo se observan las triadas portales, que están formadas por tejido fibroso que contiene a la vena porta, la arteria hepática y el conductillo biliar. Las ramas vasculares de las triadas hacen anastomosis con las ramas de las triadas adyacentes (Strombeck y Juilford, 1995; González, 1995).

Los lobulillos están formados por cordones de hepatocitos que actúan como placas de una célula de espesor e irradian hacia la periferia desde un pequeño vaso central, la vena central y están separados entre sí por lagunas por las que transcurren los sinusoides. Entre los sinusoides y las placas se encuentra el espacio de Disse o espacio perisinusoidal que es una hendidura llena de líquido (Junqueira y Carneiro, 2006; Geneser, 2006).

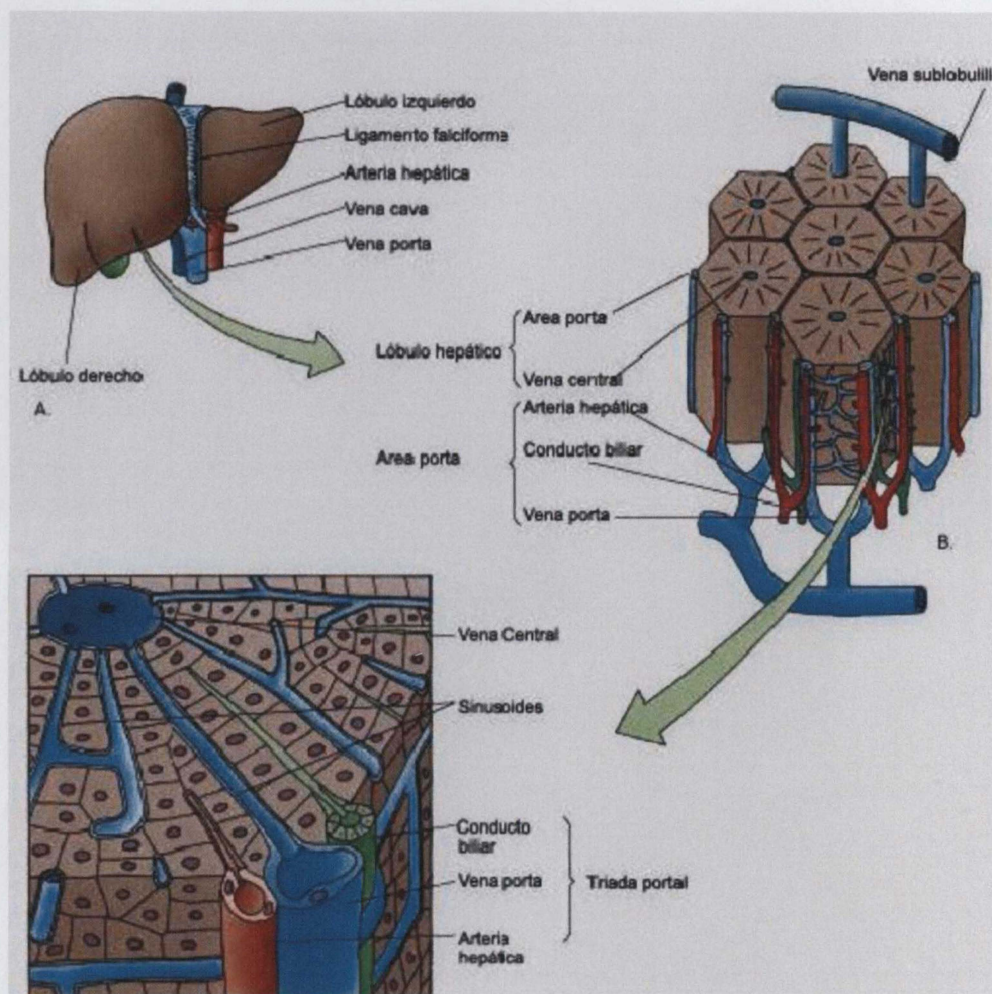


Figura 2. En la imagen se observan las distintas estructuras anatómicas y funcionales del hígado (Fuente: <http://higado-med-uaa.blogspot.com>).

El lobulillo portal

Es la unidad funcional encargada de las actividades exócrinas del hígado. Su función se relaciona entorno al conducto biliar del espacio porta y su forma es triangular. Se encuentra constituido por tres lobulillos hepáticos, que son drenados por un mismo conducto biliar, de esta forma el eje del lobulillo portal es el conducto biliar del espacio porta (Stinson y Calhoun, 1994).

Acino hepático

Es la unidad microvascular del parénquima hepático, y se encuentra dentro de dos venas centrales incluyendo ramificaciones terminales del sistema de vías biliares, la vena porta y la arteria hepática, éstas últimas dos son las que se toman como ejes. A partir de estas irradian los sinusoides que distribuyen la sangre de manera secuencial hacia el centro del lobulillo alcanzando la vena central; la bilis lo hace en sentido contrario, entre los hepatocitos se encuentran los canaliculos biliares cuyo contenido se vierte hacia los conductos de Hering, en el eje del lobulillo hasta alcanzar el conducto biliar, siguiendo su curso hacia la vesícula. La organización microvascular del acino hepático, permite definir tres zonas funcionales concéntricas

(ver figura 3): Zona 1 o Periportal, representa el área de tejido hepático que rodea en forma inmediata al ducto biliar y ramas terminales de la vena porta y arteria hepática. Zona 2 o Intermedia, es una zona transicional entre la zona 1 y 3. Zona 3 o Perivenosa, situada alrededor de la vénula hepática terminal (vena central) (González, 1995; Engelking y Anwer, 1999).

Las diferencias en la dinámica del flujo sanguíneo, la presión y la tensión de oxígeno explican los gradientes observados en la actividad metabólica de los hepatocitos en sus diferentes localizaciones. También determina el patrón de anomalías patológicas que se pueden presentar (Stinson y Calhoun, 1994; Strombeck y Juilford, 1995).

En la zona 1 los hepatocitos son más activos (presentan abundantes mitocondrias y un aparato de Golgi desarrollado), por que reciben mayor aporte de oxígeno y nutrientes, también estas células son las primeras en ser expuestas a sustancias tóxicas que entran en el hígado. Es donde tiene lugar, sobre todo la glucogénesis, la síntesis de urea, los procesos de oxidación y la síntesis de los Ácidos Biliares. Los sinusoides de esta zona son muy anastomóticos. La zona 3 es la más susceptible a ser dañada, debido al menor aporte de oxígeno y nutrientes, y las células presentes en esta zona poseen un gran desarrollo del retículo endoplasmático liso. A este nivel se produce una mayor cantidad de glucólisis, síntesis de glucógeno, y síntesis de ácidos grasos. Los sinusoides de esta zona son rectos y drenan hacia las vénulas hepáticas terminales con distribución radial (Stinson y Calhoun, 1994; González, 1995; Strombeck y Juilford, 1995; Sallmann y Fuhrmann, 2005).

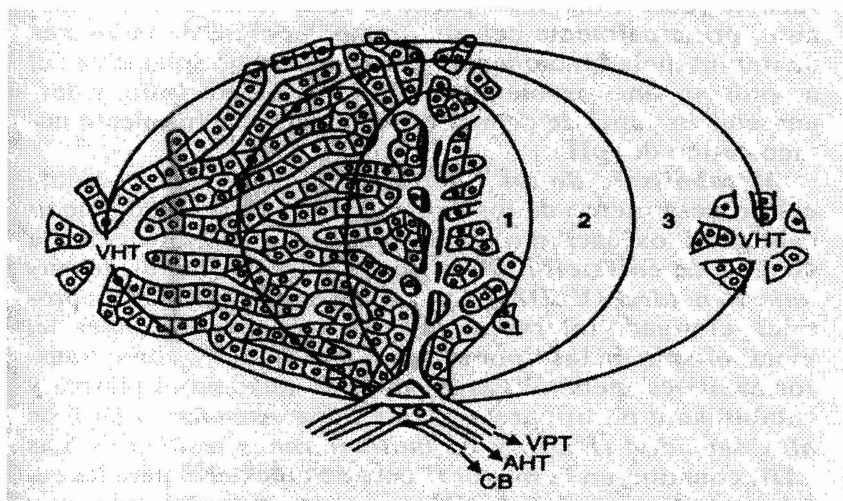


Figura 3. Representación esquemática del Acino Hepático. VPT, Vénula Portal Terminal; AHT, Arteriola Hepática Terminal; CB, Conducto Biliar; VHT, Vénula Hepática Terminal. Las zonas comprendidas entre dos vénulas hepáticas terminales constituyen el acino hepático. La zona más cercana al eje vascular corresponde a la zona 1 periportal y la más alejada a la zona 3 o perivenosa (Fuente: Anderson, 1999).

El hepatocito

Los hepatocitos son células grandes, de forma poliédrica con seis o más caras, siendo diferentes dependiendo de la estructura con la cual contactan, encontrándose tres tipos: una que forma la pared del espacio perisinusoidal y cuya superficie presenta microvellosidades, otra superficie que delimita los canalículos biliares y por último una superficie de contacto entre los hepatocitos adyacentes, donde las membranas celulares pueden tener uniones porosas y desmosomas (ver figura 4) (Stinson y Calhoun, 1994).

Estas células presentan un núcleo esférico, ubicado centralmente con uno o más nucléolos prominentes y acúmulos dispersos de cromatina. En algunas ocasiones pueden aparecer dos núcleos. Dependiendo de las diferencias funcionales y nutricionales, el citoplasma presenta amplias variaciones. Contienen abundantes mitocondrias, numerosos lisosomas, grupos de lisosomas libres y retículo endoplasmático rugoso y liso bien desarrollados, en este último se encuentra la familia de enzimas P-450, que catalizan reacciones, utilizando como sustratos gran variedad de compuestos hidrofóbicos, muchos de los cuales son xenobióticos (Nelson y Cox, 2009).

El complejo de Golgi se dispone próximo al canalículo biliar o cercano al núcleo. También se observan gránulos densos con forma de roseta que contienen glucógeno y vacuolas ocupadas por grasa. Pueden verse en forma normal los pigmentos biliares (Stinson y Calhoun, 1994).

Es la célula más versátil del organismo con funciones endocrinas y exocrinas, cuenta con capacidad para sintetizar, almacenar, secretar, detoxificar y transportar diversas sustancias. Disponiéndose en cordones o láminas radiales con el grosor de una célula, con la perfusión sanguínea en ambos lados (Strombeck y Juilford, 1995).

Es el sitio de síntesis de varias proteínas plasmáticas como la albumina, la protrombina, el fibrinógeno y las lipoproteínas, además se sintetizan proteínas para su propio mantenimiento. Las proteínas producidas por el hepatocito son secretadas continuamente por la circulación sanguínea ya que no almacena proteínas en gránulos de secreción en el citoplasma. Los hepatocitos captan componentes sanguíneos que transforman y excretan hacia el interior de los canalículos biliares. En el hepatocito se produce la gluconeogénesis y también es el principal lugar de desaminación de aminoácidos, la principal función exócrina es la secreción de bilis (Geneser, 2006; Junqueira y Carneiro, 2006).

Dependiendo de la localización de la célula del acino hepático, diferentes grupos de enzimas y sistemas metabólicos pueden ser más afines, lo que hace a las diferencias funcionales entre los hepatocitos (Stinson y Calhoun, 1994).

La pared de los sinusoides están recubiertos con láminas fenestradas de células endoteliales que actúan como una barrera que impide el contacto directo de la sangre con los hepatocitos. Estas fenestraciones endoteliales permiten el movimiento de sustancias entre la circulación y los hepatocitos (Strombeck y Juilford, 1995). En la pared también se encuentran macrófagos fijos, las células de Kupffer. Éstas, al igual que otros macrófagos se originan a través de monocitos y llegan al hígado a través de la sangre. Una de las funciones de dichas células es

fagocitar eritrocitos desgastados, otra, es eliminar bacterias y virus transportadas por la sangre (Geneser, 2006).

Alrededor del sinusoides, en el espacio de Disse, encontramos un tercer tipo celular, las células de Ito o también llamadas lipocitos o células perisinusoidales que almacenan lípidos y vitamina A. Estas células tienen un efecto regulador del flujo sanguíneo a través de los sinusoides, también producen la mayor parte del colágeno que forma parte del retículo intralobulillar. Además desempeñan funciones como captación, almacenamiento, liberación de retinoides, secreción de factores de crecimiento y citocinas, así como síntesis y secreción de proteínas de la matriz extracelular y proteoglicanos (Junqueira y Carneiro, 2006; Geneser, 2006).

Las células de Ito se encargan de la síntesis de colágeno tipo III, tras ciertas lesiones hepáticas estas células proliferan, adquiriendo características de miofibroblastos en patologías crónicas, siendo muy importantes en el desarrollo de la fibrosis hepática (Stinson y Calhoun, 1994; Junqueira y Carneiro, 2006).

Otro tipo celular son las células de Pit, que son linfocitos residentes en el hígado, se ubican en la luz del sinusoides y poseen actividad citotóxica no dependiente de anticuerpos. Cumplen un rol importante controlando la aparición de células tumorales y como mecanismo de defensa contra hepatitis virales (Bloom y Fawcett, 1995).

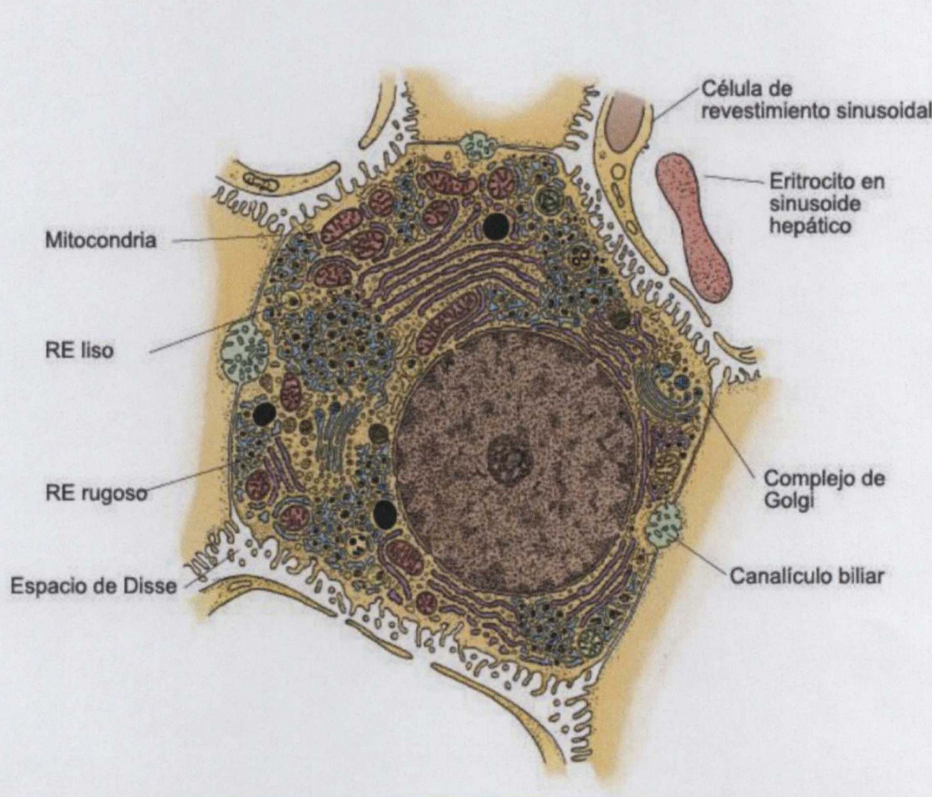


Figura 4. Esquema de un hepatocito (Fuente: <http://higado-med-uaa.blogspot.com>).

Sistema de conducción biliar

La secreción biliar comienza en los hepatocitos que secretan Ácidos Biliares, colesterol y otros componentes biliares. Esta bilis pasa por los capilares biliares intralobulillares. Inmediatamente esta bilis, fluye por los canalículos a las vías biliares interlobulillares que transcurren en la tríada de Glisson (Geneser, 2006; Guyton y Hall, 2011). Estas vías se unen en conductos con diámetro progresivamente mayores hasta abandonar el hígado como vías biliares extrahepáticas, los conductos hepáticos derecho e izquierdo, que juntos forman el conducto hepático común. Este conducto se fusiona con un conducto que proviene de la vesícula biliar, el conducto cístico, formando el conducto colédoco que desemboca en la ampolla de Vater en el duodeno (Geneser, 2006).

Los conductos hepáticos, cístico y biliar común están revestidos por una mucosa de tejido columnar simple cuya lamina propia es delgada y está rodeada por una capa de músculo liso que se vuelve más gruesa cerca del duodeno formando el esfínter de Oddi que regula el flujo de bilis hacia el duodeno (Junqueira y Carneiro, 2006).

Funciones metabólicas del hígado

Las funciones metabólicas del hígado son muy diversas y las principales pueden clasificarse dentro de cuatro grupos.

Síntesis y secreción

La bilis, producida por los hepatocitos es una secreción digestiva y al mismo tiempo un medio de excreción. Su constitución está dada por agua, bilirrubina, sales biliares, lecitina, colesterol y otros compuestos (Maclachlan y Cullen, 1995; Kelly 2002; Junqueira y Carneiro, 2006; Geneser 2006).

Las sales biliares son las que juegan un papel fundamental en el aparato digestivo dado que en el intestino delgado favorecen la digestión y absorción de grasa formando micelas y activando la lipasa pancreática (Sallmann y Fuhrmann, 2005; Geneser, 2006).

A medida que es producida, la bilis se almacena y se concentra en la vesícula biliar. Hasta que la presencia de alimentos en el duodeno, especialmente lípidos, desencadena la contracción refleja y el vaciamiento de la vesícula biliar. El reflejo es mediado por la hormona Colecistoquinina (CCK) liberada por las células I de la mucosa del intestino delgado, esta llega a la vesícula biliar por el torrente sanguíneo. Así mismo se relaja el músculo del esfínter de la ampolla hepatopancreática por reflejo miógeno o neurógeno y posiblemente por efecto de la CCK (Geneser, 2006). Además del efecto de la CCK sobre la secreción biliar, la secretina influye en el epitelio de los conductos biliares, al estimular la secreción de agua y bicarbonato de manera similar a la acción que ejerce en las células de los conductos pancreáticos, esto permite que la bilis participe en la neutralización de los ácidos gástricos (Herdt, 2009).

Otras funciones serían, almacenamiento de glucosa como glucógeno y neoglucogénesis a partir de aminoácidos. Además síntesis de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), ácidos grasos como

el colesterol y triacilglicéridos, proteínas plasmáticas como albúmina y fibrinógeno, así como la síntesis de los factores de coagulación incluidos I, II, V, VII, IX, y X. Los factores II, VII, IX, y X son dependientes de la vitamina K y formación de alfa y beta globulinas (Richter, 1998).

Transformación

El hígado juega un rol muy importante en la detoxificación de gran número de fármacos y toxinas a través de diferentes procesos de biotransformación, entre los cuales se encuentran procesos de oxido-reducción, hidrólisis y conjugación, llevados a cabo por enzimas del retículo endoplasmático liso de los hepatocitos. Las enzimas que catalizan estos procesos dependen de los sistemas del citocromo P-450. Estos mecanismos permiten aumentar la solubilidad de las sustancias para su posterior eliminación. Las sustancias se conjugan con glucuronato, sulfato o glutatión y se expulsan al plasma o bilis por medio de proteínas transportadoras presentes en la membrana de los hepatocitos, la excreción de estas sustancias se da en el riñón o en el tracto gastrointestinal (González, 1995; Junquiera y Carneiro, 2006; Geneser, 2006).

Excreción

Se produce la excreción de diversas sustancias ingeridas, de pigmentos biliares, xenobióticos y otros pigmentos como por ejemplo la filioeritrina (Geneser, 2006).

Inmunidad

Las células de Kupffer revisten el endotelio, en la luz del sinusoides tienen la función de eliminar bacterias y virus transportados por la sangre (Geneser, 2006).

La bilis contiene importantes cantidades de IgA que es sintetizada por las células del tejido linfóide asociado a la membrana del intestino (GALT), que llega a los hepatocitos por la sangre portal y es captada por las células hepáticas, posteriormente es incorporada a la bilis llegando a la luz intestinal (Geneser, 2006).

Otras funciones

El hígado interviene en procesos de desaminación de aminoácidos con formación de urea. También almacena vitaminas (A, E, D y B12) y oligoelementos. Contribuye a la biotransformación de hormonas especialmente las tiroideas y todas las esteroideas (González, 1995).

LA BILIS

La bilis es sintetizada por el hígado y cumple una importante función en la digestión, contribuye a la emulsión de las partículas grasas y de los alimentos y facilita su transporte y absorción por las vellosidades intestinales. Es una solución isosmótica ligeramente alcalina y entre los componentes orgánicos más abundantes están los Ácidos Biliares, fosfolípidos, colesterol, pigmentos biliares, electrolitos y agua. En menor proporción también aparecen proteínas y metabolitos de hormonas. La bilis es secretada intermitentemente en los monogástricos siendo restringida la entrada

de bilis al duodeno en los períodos interdigestivos por el esfínter de Oddi. Se ha encontrado en todas las especies, una relación lineal entre la tasa de secreción de Ácidos Biliares y el flujo de bilis (González, 1995).

Fosfolípidos

Son componentes de la bilis, sintetizados en su totalidad por los hepatocitos y los fosfolípidos de la dieta son hidrolizados. La secreción de fosfolípidos se ve disminuida si se interrumpe la circulación enterohepática (González, 1995).

Colesterol

Existe un equilibrio entre la síntesis y absorción de colesterol y su degradación y eliminación, por lo que se cubren perfectamente sus necesidades. Un pequeño porcentaje de lo que se secreta en la bilis procede de la síntesis de novo, el resto procede de distintas fuentes: dieta, síntesis intestinal, reabsorción de colesterol biliar, y colesterol proveniente de diferentes tejidos. Es captado por el hígado a partir de distintas lipoproteínas, como quilomicrones, VLDL remanentes, LDL y HDL. Es muy importante el papel que cumplen los Ácidos Biliares, no solo ayudan en la síntesis del colesterol, sino que también contribuyen en otras etapas de su metabolismo (González, 1995).

Los Ácidos Biliares

Los Ácidos Biliares junto con el colesterol y los fosfolípidos constituyen los lípidos biliares. Se sintetizan en el hígado a partir del colesterol, formando derivados con una cadena lateral de cinco carbonos y un número variable de grupos hidroxilo, ellos son ácido litocólico que tiene el grupo hidroxilo en el carbono tres, el ácido desoxicólico con hidroxilos en los carbonos tres y siete, el ácido quenodesoxicólico con los grupos hidroxilo en los carbonos tres y doce, y el ácido cólico que posee los grupos hidroxilo en los carbonos tres, siete y doce. Los ácidos que se sintetizan en el hígado, el cólico y el quenodesoxicólico se denominan Ácidos Biliares primarios. Los demás derivan de éstos por deshidroxilación bacteriana en el intestino y se denominan Ácidos Biliares secundarios (ver figura 5). El ácido litocólico es transformado a ácido cetolítico en el hígado que luego se transforma en ácido ursodesoxicólico nuevamente en el intestino. Los Ácidos Biliares se conjugan formando glico y tauro conjugados gracias a la unión con moléculas de glicina, taurina, sulfato y ácido glucurónico. La conjugación con las últimas dos serían vías metabólicas residuales a excepción de las situaciones de colestasis en que el porcentaje de estos conjugados se ve muy aumentado. Debido a que el contenido intestinal tiene un pH casi neutro, y que los Ácidos Biliares conjugados tienen valores de pK menores a los no conjugados (3,8 los glicoconjugados; 1,0 los tauroconjugados; y alrededor de 5,0 los no conjugados), los primeros se encuentran casi totalmente ionizados siendo más solubles en el agua que los Ácidos Biliares no conjugados. Esto favorece la formación de sales con cationes, surgiendo de esta manera la denominación de sales biliares. En los carnívoros predominan los Ácidos Biliares trihidroxilados conjugados con taurina. Los Ácidos Biliares dispersan los lípidos actuando como detergentes naturales formando agregados micelares, debido a que son moléculas anfipáticas, es decir con un extremo hidrófilo y otro hidrófobo. Las micelas se formarán cuando la cantidad de Ácidos Biliares está por encima de una determinada concentración llamada concentración micelar crítica (González, 1995).

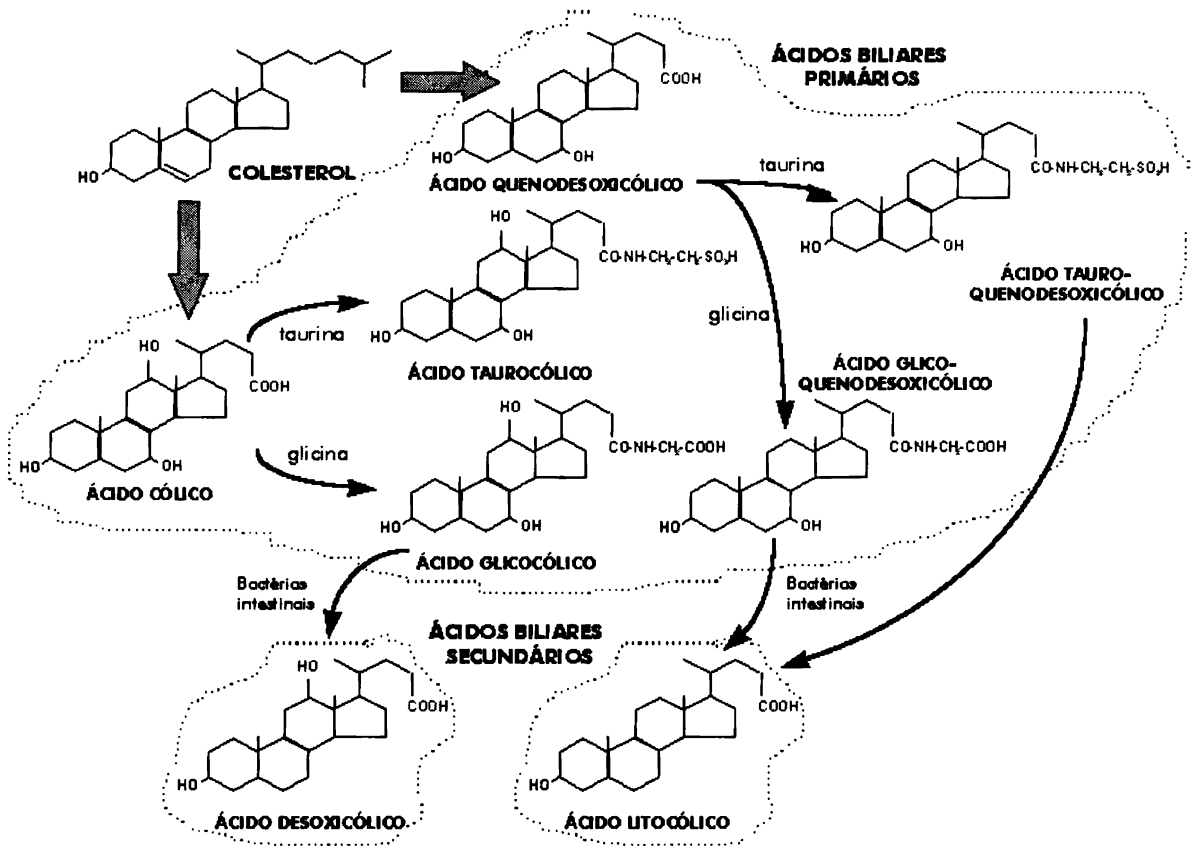


Figura 5. Estructura química de los Ácidos Biliares primarios y secundarios (Fuente: <http://reocities.com/CapeCanaveral/launchpad/9071/Bile.html>).

Circulación enterohepática y metabolismo de los Ácidos Biliares

El metabolismo de los Ácidos Biliares consta de tres etapas, una hepática, una vesicular y una intestinal (ver figura 6).

Etapa hepática

Es la que refiere al origen, conjugación y secreción de los Ácidos Biliares. Los Ácidos Biliares provienen de la síntesis en el hígado o de la captación de estos desde la sangre. La síntesis ocurre a partir del colesterol. La primera etapa es la limitante del proceso y es una 7 alfa hidroxilación, requiere oxígeno y citocromo P 450. Esta síntesis cubre las perdidas intestinales, pero la mayor parte proviene de la circulación enterohepática que es la circulación permanente entre intestino e hígado por la sangre portal. La mayor parte de los Ácidos Biliares se reabsorben en el intestino delgado distal y en el intestino grueso (González, 1995; Nelson y Cox, 2009).

El hígado aumenta la síntesis de Ácidos Biliares si se interrumpe este reciclaje. Esto se debe al feedback negativo que ejercen los Ácidos Biliares que retornan al hígado inhibiendo la actividad colesterol 7 alfa hidrolasa. Durante la circulación enterohepática los Ácidos Biliares son transportados unidos a albúmina, y en menos de un diez por ciento unido a lipoproteínas HDL y lipoproteínas de baja densidad

(LDL). Antes de ser secretados los Ácidos Biliares captados en los hepatocitos se conjugan en dos etapas, primero la activación microsómica y luego la condensación con glicina o taurina. Esta última puede ser una etapa limitante en el metabolismo de los Ácidos Biliares cuando se presentan patologías con disminución importante de taurina o glicina (González, 1995).

Etapa vesicular

En la vesícula biliar los Ácidos Biliares se concentran, y una vez en intestino son transformados por la flora bacteriana por desconjugaciones, deshidroxilaciones y deshidrogenaciones (González, 1995).

Etapa intestinal

En el íleon los residuos de glicina y taurina se liberan por un proceso activo dependiente de ATP, reabsorbiéndose una importante proporción de Ácidos Biliares. La reabsorción de Ácidos Biliares también puede darse por difusión pasiva a lo largo del intestino. Tanto el pH, el pK o la motilidad intestinal, son factores que influyen en la utilización de la vía activa o pasiva. El reciclaje enterohepático de Ácidos Biliares hace que estos recirculen hasta cinco veces por cada comida, solo un dos a cinco por ciento del contenido total se pierde por las heces a diario, esta cantidad es nuevamente sintetizada por el hígado. Existe un pequeño porcentaje de Ácidos Biliares (primarios, secundarios, conjugados y no conjugados) que pasa a la circulación general como sales biliares y es la que puede ser medida. Después de cada ingesta de alimentos hay un aumento transitorio de la cantidad de sales biliares en la sangre. Los Ácidos Biliares presentes en la circulación sanguínea son indicadores de la integridad de la circulación entre el hígado, tracto biliar e intestino, así como de la funcionalidad hepática. Valores altos sugieren funcionalidad hepática perjudicada y/o interferencia en el flujo de la bilis. Valores bajos indican obstrucción intestinal o mala absorción. Cuando disminuye la funcionalidad hepática no se realiza la correcta extracción de Ácidos Biliares de la circulación portal. En casos de alteración de la circulación enterohepática debido a colestasis con interrupción de la llegada al intestino y trastornos de origen intestinal, se produce una mala absorción de lípidos con esteatorrea y diarrea (González, 1995).

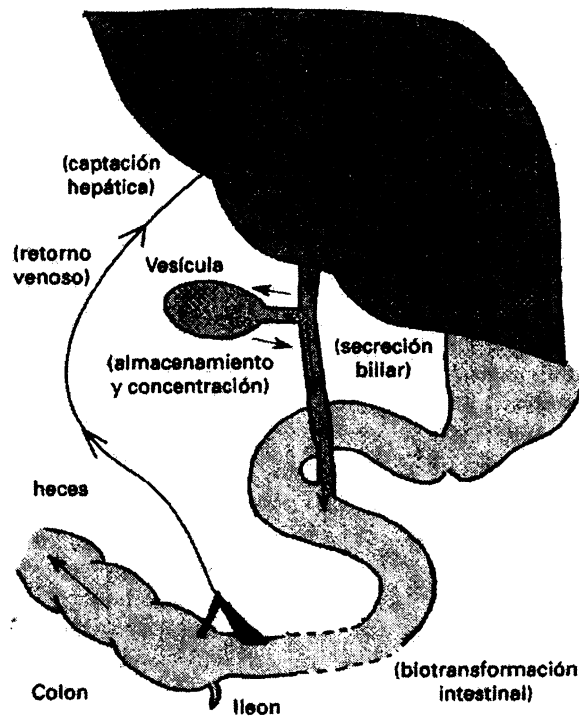


Figura 6. Diagrama sobre la circulación enterohepática normal de los Ácidos Biliares (González, 1995).

Función de los Ácidos Biliares y su papel en la digestión de los lípidos

Los Ácidos Biliares tienen un importante papel en la digestión de los lípidos. Éstos, al igual que otros compuestos orgánicos se almacenan en la vesícula biliar, y una vez que la bilis es vertida al intestino, emulsiona los lípidos formando micelas mixtas. La formación de estas pequeñas gotitas incrementa la superficie en la que actúan las enzimas lipolíticas. Por la acción de estas enzimas, se forman monoglicéridos, fosfolípidos y lisofosfátidos que se incorporan a las micelas favoreciendo su absorción a lo largo de las microvellosidades intestinales, penetrando por difusión simple a través de las membranas celulares (González, 1995).

PATOLOGÍAS QUE CURSAN CON ALTERACIONES EN LOS NIVELES SÉRICOS DE ÁCIDOS BILIARES (ABS).

Tabla I. Clasificación de patologías que cursan con alteraciones en los niveles de ABS (Nelson y Couto, 2010).

Patologías que cursan con disminución de los niveles de Ácidos Biliares	
Enfermedades que cursan con Trastornos de malabsorción	Enteropatía que responde a antibióticos Trastornos que responden a la dieta Enfermedad inflamatoria del intestino delgado Enfermedad inflamatoria del intestino grueso Gatritis/Enteritis granulomatosa Enteropatía inmunoproliferativa del Basenji Enteropatía del Shar-pei
Retraso en el vaciado gástrico	
Obstrucción intestinal	

Tabla II. Clasificación de patologías que cursan con alteraciones en los niveles de ABS (Nelson y Couto, 2010).

Patologías que cursan con aumento de los niveles de Ácidos Biliares	
Hepatitis Crónica	Idiopática Infecciosa Tóxica Por almacenamiento de cobre Hepatitis disecante lobulillar
Hepatitis Aguda	
Trastornos del Tracto Biliar	Colangitis y Colecistitis Mucocele de la vesícula biliar Obstrucción del conducto biliar extrahepático Peritonitis biliar
Lesiones Hepáticas Focales	Abcesos Hiperplasia nodular y neoplasias Síndrome hepatocutáneo Dermatitis necrótica superficial

Trastornos Vasculares Congénitos y Adquiridos

Shunt Portosistémicos
Hipoplasia Primaria de la vena porta
Displasia microvascular
Hipertensión portal no cirrótica
Fístula Arterioportal

Hepatopatías Secundarias

Vacuolización de los hepatocitos
Congestión hepática/edema
Hepatitis reactiva inespecífica

Éstasis Biliar

Encefalopatía Hepática

A continuación en el presente trabajo describiremos aquellas patologías que solo pueden ser diagnosticadas por medio del Test de Estimulación de Ácidos Biliares, ya que no pueden ser detectadas por otras herramientas diagnósticas. La mayoría de las mencionadas anteriormente son diagnosticadas por métodos de rutina.

Shunt portosistémicos intrahepático y extrahepático

Los Shunt o derivaciones portosistémicas son comunicaciones vasculares anómalas que llevan la sangre desde la circulación portal, directamente al corazón y desde allí a la circulación sistémica sin pasar por el hígado, lo que ocasiona el pasaje de sangre sin filtrar directamente a la circulación general provocando elevados niveles de amoníaco y otras sustancias nocivas, ocasionando secundariamente Encefalopatía hepática. Además estas derivaciones portosistémicas hacen que no lleguen sustancias tóxicas al hígado explicadas anteriormente en el presente trabajo, lo que ocasionarían microhepatía (Willard, 2006).

Los perros con Shunt portosistémico pueden presentar shunt únicos, dobles o múltiples y otras anomalías simultáneas como la hipoplasia de la vena porta o la atresia completa. Además el shunt puede ser congénito o adquirido, intrahepático o extrahepático (ver figura 7). Los congénitos se diferencian de los adquiridos en que no presentan hipertensión portal ni ascitis, excepto que los animales también presenten hipoalbuminemia grave que ocasiona la presencia de ascitis en un Shunt portosistémico congénito. Las derivaciones portosistémicas extrahepáticas son comunicaciones anómalas, que conectan la vena porta o uno de sus vasos afluentes como lo son las venas esplénica, mesentérica craneal o caudal, vena gástrica izquierda o vena gastroduodenal con la vena cava caudal o vena ácigos. Los intrahepáticos se presentan con mayor frecuencia en perros de razas grandes, a excepción del Collie que además puede presentar derivaciones portosistémicas extrahepáticas (Pratschke, 2010).

Se sospecha que el Shunt portosistémico puede ser de carácter hereditario en varias razas. La mayoría de las anastomosis intrahepáticas se hallan en las razas caninas

grandes (Doberman pinscher, Retriever, dorado, Labrador retriever, Setter irlandés, Samoyedo y Wolfhound irlandés), mientras que los cortocircuitos extrahepáticos se identifican generalmente en razas caninas pequeñas (Schnauzer miniatura, Yorkshire terrier, Poodle miniatura y Dachshund) (Richter, 1998).

Los signos clínicos de las derivaciones portosistémicas son muy variables, predominando los signos neurológicos, urinarios y gastrointestinales. En la mayoría de los casos se identifica en animales menores de 1 año, aunque se ha diagnosticado en animales mayores de 10 años. No hay predilección sexual (Richter, 1998; Willard, 2006).

El cuadro clínico a menudo varía en la semana o incluso a lo largo del día, los síntomas pueden exacerbarse luego de la alimentación, lo cual refleja la generación del amoníaco a partir de los sustratos dietéticos. Los signos clínicos más comunes son depresión crónica, crecimiento retardado y pérdida de peso (Richter, 1998).

Existen diferentes niveles en la gravedad de los signos neurológicos, desde cachorros con ceguera central, que caminan en círculos, llegando algunos al estado comatoso; hasta animales levemente afectados sin sintomatología evidente. Los signos más frecuentes son sacudidas, temblores, inclinación de la cabeza contra las paredes, desorientación, letargia, ataxia, convulsiones y pedaleo. A menudo se ha observado intolerancia a los anestésicos en las castraciones de rutina en los animales menores de un año (Richter, 1998; Nelson y Couto, 2010; Pratschke, 2010).

También es posible encontrar animales con infecciones urinarias recurrentes, cristaluria y urolitiasis de urato. Es frecuente que los perros presenten poliuria-polidipsia con orina hipostenúrica que se debe a la alta concentración de cortisol, a niveles elevados de hormona antidiurética y a un gradiente de concentración medular renal reducido. Los signos gastrointestinales consisten en náuseas y vómitos continuos. Dentro de los signos clínicos generales podemos encontrar retraso del crecimiento en los casos congénitos, y pérdida de peso en las derivaciones portosistémicas adquiridas (Nelson y Couto, 2010).

Para un correcto diagnóstico del Shunt portosistémico tenemos que prestar mucha importancia a la historia clínica, a la anamnesis y los signos clínicos que nos van a sugerir la presencia de esta patología. Existen diversas pruebas para diagnosticar los Shunt portosistémicos, entre ellas, la ecografía, sin embargo no encontrarlo por este método, no los descarta (Pratschke, 2010). A través de la radiografía simple es posible evaluar el tamaño hepático (microhepatía), que puede guiarnos a un diagnóstico presuntivo de las derivaciones portosistémicas, proporcionando mayores datos una radiografía contrastada (Richter, 1998). Cuando se sospecha un Shunt portahepático es preferida la portografía retrógrada por que podemos llegar a resolverlo con catéteres. También es de utilidad la gamagrafía, aunque esta última no diferencia entre Shunt portosistémico congénito y adquirido (Willard, 2006).

Los niveles de las enzimas hepáticas pueden estar aumentados o no por lo cual no son un método muy confiable para el diagnóstico de los Shunt portosistémicos. La determinación de la concentración de Ácidos Biliares séricos cumple un importante papel en el diagnóstico de esta patología encontrándose niveles basales normales o elevados, y post prandiales aumentados (Nelson y Couto, 2010).

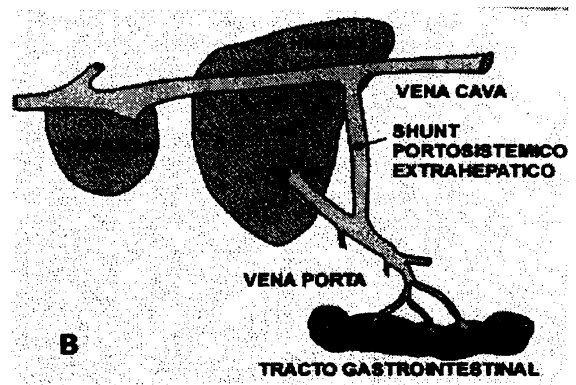
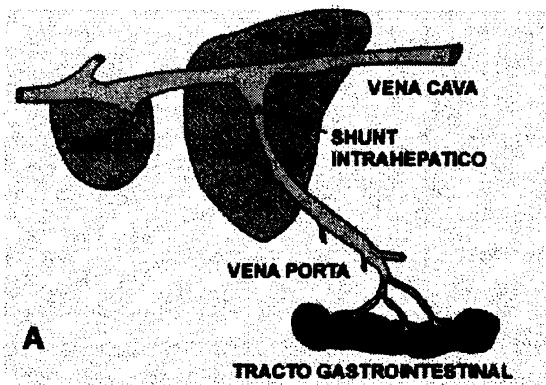


Figura 7. Representación de Shunt Portosistémicos Congénitos.

A) Shunt Portosistémico Intrahepático. B) Shunt Portosistémico Extrahepático

(Fuente: <http://www.angorasturcos.es/shunt.htm>).

Encefalopatía hepática

La Encefalopatía hepática (EH) es una patología metabólica que ocurre de forma secundaria a la enfermedad hepática grave o a los Shunts portosistémicos (Johnson y Sherding, 2002).

Se presenta como una disfunción neurológica que aparece con estatus mental anormal, en consecuencia a la exposición de la corteza cerebral a las toxinas intestinales absorbidas y que no han sido metabolizadas por el hígado (Nelson y Couto, 2010).

Las principales sustancias que intervienen en el origen de la EH, ya sean solas o en conjunto, son el amoníaco, los mercaptanos, los ácidos grasos de cadena corta, el ácido gamma-amino butírico (GABA), los escatoles, los indoles y los aminoácidos aromáticos que se forman en el intestino por la acción bacteriana y al no metabolizarse en el hígado alcanzan en la circulación sistémica y en el SNC concentraciones elevadas, y como consecuencia aparecen los síntomas clínicos de la enfermedad (Johnson y Sherding, 2002; Nelson y Couto, 2010).

La ingesta de proteínas acentúa los síntomas ya que éstas actúan como sustrato para la formación del amoníaco y los mercaptanos, esto es importante al momento de instaurar un tratamiento nutricional de sostén en aquellos pacientes que padezcan la enfermedad (Jonson y Sherding, 2002).

Entre los signos inespecíficos que pueden indicar que estamos en presencia de EH se observan anorexia, pérdida de peso, depresión, hipersalivación, fiebre, náuseas, vómitos intermitentes y diarrea. Los signos típicos a nivel de SNC son temblor, ataxia, demencia, alteraciones del comportamiento (agresividad), movimientos en círculos, presión de la cabeza contra objetos, ceguera cortical y convulsiones. Como los signos se presentan de manera inespecífica, pueden confundirse con otras patologías que afectan el SNC, pasando por alto la causa primaria de la EH. El Test de Estimulación de Ácidos Biliares nos permitirá llegar a un diagnóstico rápido y certero, siendo posible realizar un tratamiento a tiempo y adecuado que permita

revertir los signos y la sintomatología evitando así un mayor daño y asegurando un pronóstico vital y funcional favorable (Nelson y Couto, 2010).

DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS BILIARES EN SUERO

Resulta una herramienta útil para el clínico veterinario en el momento de diagnosticar enfermedades hepáticas y extrahepáticas debido a su alta sensibilidad y especificidad. La importancia de esta prueba radica en que evalúa la totalidad del ciclo enterohepático como son la síntesis, captación, recaptación y excreción lo que la hace una verdadera prueba funcional.

Indicaciones

Para indicar un test diagnóstico se deben considerar, su practicidad (tiempo, dinero, facilidad y seguridad), precisión, sensibilidad y especificidad.

La determinación de Ácidos Biliares está indicada en aquellos pacientes con sospecha de enfermedad hepatobiliar, animales jóvenes con retardo en el crecimiento, así como en pacientes con sintomatología neurológica, cambios en el comportamiento y ceguera transitoria, compatible con Encefalopatía Hepática y Shunt Portosistémicos (Isaac, 2007). También está indicado para la identificación de hepatopatía cuando la enzimología es normal, lo que puede darse en las patologías nombradas así como en cirrosis y neoplasia hepática metastásica (Richter, 1998).

Significancia clínica y utilidad diagnóstica en contraste con otras pruebas hepáticas

Los signos clínicos de las enfermedades hepáticas son comúnmente inespecíficos, presentándose en la clínica casos de variada sintomatología, como signos neurológicos, poliuria/polidipsia, letargia, vómitos y ascitis donde no se confirma la enfermedad hepática hasta que se realiza el perfil bioquímico en suero.

Los estudios hepáticos de rutina incluyen análisis de enzimas en suero: Aspartato Amino Transferasa (AST), Alanino Amino Transferas (ALT), Gamma Glutamil Transferasa (GGT) y Fosfatasa Alcalina Sérica (FAS), que determinan daño hepático. Los estudios de funcionalidad hepática se pueden dividir en: analitos bioquímicos producidos por el hepatocito (proteínas totales, albúmina, globulina, glucosa, factores de la coagulación, amoníaco, nitrógeno uréico y colesterol) y componentes bioquímicos dependientes de la captación, procesamiento metabólico y excreción (Bilirrubina, Ácidos Biliares) (Isaac, 2007).

El incremento de las concentraciones séricas de AST, ALT, GGT y FAS sugiere daño hepático, sin embargo no son evidencia significativa de patología hepática. AST y ALT se encuentran en el citosol de los hepatocitos y el aumento de la concentración de cualquiera de ellas en suero sugiere daño de la membrana hepatocelular. En el perro la ALT es una enzima específica del hígado, sin embargo se observan aumentos en sus concentraciones séricas en animales tratados con corticosteroides o fenobarbital. En las alteraciones hepáticas localizadas (tumores y abscesos) su aumento no es un valor fiable (Schelsinger y Rubin, 1993; Kraft y col.,

2000). La AST, proviene de diferentes tejidos y órganos, presenta una elevada actividad en el músculo cardíaco y esquelético y en segundo lugar en el hígado. Se encuentra especialmente incrementada en patologías musculares. El aumento de sus niveles sanguíneos indica necrosis celular y en menor grado daño en la membrana por su localización en citoplasma y mitocondrias (Schelsinger y Rubin, 1993; Kraft y col., 2000). La FAS y la GGT se localizan en la membrana, FAS en la membrana canalicular y GGT en las células epiteliales que conforman el conducto biliar (Isaac, 2007). La FAS se encuentra en casi todos los tejidos del organismo con diferentes actividades pero solo las isoenzimas ósea y hepatobiliar son de importancia diagnóstica (Isaac, 2007). En animales en crecimiento y adultos con enfermedades que provocan una remodelación ósea, su aumento no es indicativo de enfermedad hepática debido a que se presenta un aumento fisiológico causado por la actividad enzimática de la FAS en los osteoblastos (Kraft y col., 2000; Sodikoff, 2002). El incremento de su actividad también se ve asociado al empleo de glucocorticoides, medicación anticonvulsivante y síndrome de Cushing. Otro motivo para el aumento en la FAS puede estar dado por insuficiencia renal ó cirrosis (Sodikoff, 2002). Al contrario que la FAS, la actividad de GGT se ve aumentada sólo en enfermedades del hígado y de los conductos biliares, por lo que se la considera hepatoespecífica, el aumento en sus concentraciones séricas se observa en colestasis intra o extrahepática (Kraft y col., 2000). Además de las enzimas anteriormente nombradas existen otras con significancia diagnóstica pero su determinación presenta algunos inconvenientes. La arginasa es una enzima específica del hígado del perro pero su determinación sérica no es de rutina o no está disponible fácilmente. La sorbitol deshidrogenasa puede ser un indicador muy útil de daño hepático, sin embargo es una enzima muy inestable lo que limita su utilización. La enzima ornitina carbamil transferasa es una enzima específica en el perro y un aumento en su actividad es una medida muy sensible en su actividad, pero presenta el inconveniente de ser técnicamente la prueba más difícil de realizar por lo que es poco utilizada (Bush, 1999). Utilizadas en conjunto las concentraciones séricas de enzimas hepáticas son de utilidad en el diagnóstico de enfermedades hepáticas, sin embargo sus valores no pueden ser utilizados para evaluar la funcionalidad de dicho órgano. En algunos casos de disfunción hepática, sus valores pueden encontrarse normales y en algunos casos pueden encontrarse valores anormales cuando el órgano está funcionando normalmente (Schelsinger y Rubin, 1993).

Las concentraciones en suero de glucosa, urea, albúmina y colesterol podrían ser utilizadas para evaluar la funcionalidad hepática, sin embargo más del 80% de la masa hepática se debe perder antes de que cualquier cambio en estos parámetros sea detectado. Adicionalmente la glucosa en suero, la albúmina, el colesterol y la concentración de urea pueden ser influenciados por otros factores como, enfermedad intestinal, enfermedades metabólicas, enfermedades endócrinas, enfermedades renales, sepsis o dieta. Estos parámetros bioquímicos no son indicadores muy sensibles o específicos de la función del hígado (Schelsinger y Rubin, 1993).

En el Hígado se sintetizan la mayoría de las proteínas como albúminas, alfa y beta globulinas, enzimas y factores de coagulación. La disminución de las proteínas se observa en hepatopatías graves por alteración de la función de síntesis. Las albúminas no resultan adecuadas para el diagnóstico de patologías hepáticas debido a que las hipoalbuminemias pueden ser debidas a múltiples causas como

enfermedades intestinales e insuficiencia renal. Las alfa globulinas, se ven aumentadas en enfermedades infecciosas víricas y bacterianas al igual que por colestasis posthepática. Las beta globulinas poseen poco valor diagnóstico porque se encuentran elevadas en fases iniciales de enfermedades hepáticas pero luego sus niveles caen por falta de síntesis. Las gamma globulinas se sintetizan en el sistema retículoendotelial (SRE) pero aumentan significativamente sus niveles en enfermedades hepáticas, presentando un gran incremento en hepatopatías crónicas y en shunt portosistémicos, esto se debe a que los antígenos procedentes del intestino no son captados por el hígado sino que son transferidos a la circulación general, desde allí llegan al SRE estimulando la síntesis de las gamma globulinas. A excepción del factor VIII que es sintetizado por el SRE y el factor VI (calcio), los factores de coagulación se sintetizan en el hígado. Se observa una caída de los niveles séricos de los factores de coagulación en fases terminales de cirrosis hepáticas, por el contrario en hepatitis agudas se observa una coagulopatía por consumo. Para el diagnóstico de las enfermedades hepáticas en Medicina Veterinaria, carecen de importancia debido a que no suelen alcanzarse fases tan avanzadas de la enfermedad (Kraft y col., 2000).

El amoníaco es un producto tóxico del metabolismo protéico que llega en grandes cantidades al hígado por la circulación portal, en condiciones normales debe metabolizarse a urea en los hepatocitos y excretarse por vía renal (Dial, 1995; Kraft y col., 2000). En fases terminales de enfermedades hepáticas generalizadas especialmente cirrosis hepáticas y en Shunt portosistémicos esta detoxificación no es suficiente y como consecuencia hay un gran aumento de amoníaco en el organismo con los consiguientes síntomas de intoxicación en el sistema nervioso central (EH). Se emplea la prueba de niveles de amoníaco en suero y la prueba de tolerancia al amoníaco. El amoníaco en suero es una prueba muy útil de funcionalidad hepática pero no es ampliamente utilizada por no ser práctica. La sangre para la determinación sérica de amoníaco requiere un manejo especial que limita su uso en la práctica, la muestra debe ser heparinizada y refrigerada inmediatamente debido a que el amoníaco es muy inestable. Se debe colocar en un tubo dentro de un baño con hielo que se cierra de manera hermética, enviándose de inmediato al laboratorio. La prueba debe realizarse dentro de los 20 minutos o el plasma debe congelarse a -20°C lo que estabiliza la concentración de amoníaco durante un período mínimo de 2 días. La prueba de tolerancia al amoníaco se realiza administrando cloruro de amonio, no es comúnmente utilizada porque puede inducir vómitos y aumentos excesivos de concentraciones de amoníaco en suero que pueden causar Encefalopatía Hepática (Schelsinger y Rubin, 1993; Dial, 1995; Willard y Tvedten, 2004).

La concentración de bilirrubina también se puede utilizar para evaluar la funcionalidad hepática no siendo de elección para el clínico ante las sospechas de enfermedades hepáticas primarias anictéricas. La hiperbilirrubinemia puede ser causada por el incremento de destrucción de eritrocitos (prehepática), la disfunción hepática (hepática) o por colestasis (posthepática) (Dial, 1995). El estudio de diferentes proporciones de bilirrubina (conjugada y no conjugada) no tiene una aplicación diagnóstica confiable para la diferenciación etiológica de la ictericia debido a las variaciones en el metabolismo de la bilirrubina en las diferentes especies. Por ejemplo en el perro, la hiperbilirrubinemia conjugada se da incluso en asociación con procesos hemolíticos (Isaac, 2007).

Luego de realizar una breve reseña de las diferentes pruebas hepáticas nos introduciremos en el Test de Estimulación de Ácidos Biliares señalando su utilidad para incluirlo a los estudios de rutina indicados en la clínica.

La concentración de ABs está indicada por ser un análisis sensible y específico. En un estudio citado por Schlesinger y Rubin (1993) se observó que, de 170 perros con sospecha de enfermedad hepática, el ensayo enzimático demostró tener el 100% de especificidad (sin falsos positivos). Además posee otras ventajas sobre otros métodos diagnósticos, como ser rápido, seguro y simple de interpretar para evaluar la función hepatobiliar. No requiere la administración de compuestos exógenos o una manipulación meticulosa de las muestras, como la necesaria para medir la amoniemia. Los resultados anormales no determinan la etiología, gravedad, o pronóstico de la enfermedad (Schlesinger y Rubin, 1993).

Debido a que el Test de Estimulación de Ácidos Biliares corresponde a la función hepática y no al daño hepático, permite detectar algunas formas de enfermedad hepática de manera más precoz que las pruebas de rutina (Datos no publicados, Martino, 2012).

El procedimiento consiste en tomar dos muestras de sangre, una pre prandial con 12 horas de ayuno y otra post prandial a las 2 horas de comer (Bush, 1999). En el Laboratorio de Análisis Clínicos de Facultad de Veterinaria, utilizaremos el método enzimático colorimétrico que se detallará más adelante en el presente trabajo. Cabe mencionar que existe otro método comúnmente usado que es el Radioinmunoensayo, pero presenta las desventajas de ser más costoso y al mismo tiempo reacciona selectivamente con ciertos ABs, no tomando en cuenta los ABs totales (Schlesinger y Rubin, 1993). La unidad de medida del sistema internacional son los micromoles por litro ($\mu\text{mol/L}$) (Bush, 1999).

Los niveles anormales de Ácidos Biliares en animales en ayunas o inmediatamente después de la ingesta pueden ser indicadores de enfermedad o daño hepático, deficiencia de la función hepática, disfunción intestinal y tal vez un bloqueo de la vesícula biliar. Dentro de las causas de disminución de la concentración sérica de Ácidos Biliares encontramos: retraso en el vaciado gástrico, tránsito intestinal rápido, trastornos de malabsorción, u obstrucción intestinal. A su vez la concentración sérica de Ácidos Biliares se encuentra aumentada en los siguientes casos: Shunt portosistémicos, enfermedad hepatocelular, pérdida de masa funcional hepática, colestasis o un error de laboratorio (Schlesinger y Rubin, 1993; Willard y Tvedten, 2004). Se encuentran niveles anormales de ABs en pacientes con niveles elevados de glucocorticoides porque estos alteran la permeabilidad canalicular causando colestasis (Schlesinger y Rubin, 1993).

El Test de Estimulación de Ácidos Biliares no aporta mayor información en pacientes ictericos con enfermedad hepática o extrahepáticas, sí aporta datos relevantes en pacientes no ictericos con sospecha de estas enfermedades, confirmando el diagnóstico presuntivo (Datos no publicados, Della Cella, 2012).

Además de la determinación de ABs en suero, algunos Laboratorios Internacionales utilizan la concentración de Ácidos Biliares Urinarios como una prueba alternativa para evaluar la funcionalidad hepática. Normalmente sólo pequeñas cantidades de ABs son excretados en la orina, pero niveles elevados de ABs en suero pueden

llevar a la excreción urinaria de formas hidrosolubles sulfatadas. El análisis de orina que refleje el aumento de la concentración sérica de ABs, puede ser muy útil como marcador hepático en la práctica veterinaria, ya que es capaz de eliminar todas las complicaciones debido a la nutrición, el muestreo doble y es de fácil interpretación. En nuestro medio la cuantificación de los ABs es una prueba que recién comienza a utilizarse, la determinación de ABs urinarios será una opción disponible a futuro (Datos no publicados, Martino, 2012).

En síntesis, lo que hace relevante a esta prueba es que a diferencia de otras pruebas hepáticas, ésta evalúa la totalidad del ciclo enterohepático como son la síntesis, captación, recaptación y excreción, lo que la hace una verdadera prueba funcional.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

Utilizar la variación de los niveles de Ácidos Biliares como una herramienta en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas y vinculadas.

Estandarizar dicho método para poder ofrecer a los pacientes con diagnóstico presuntivo de patologías hepáticas primarias anictéricas este nuevo método de diagnóstico en el Centro Hospital Veterinario.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar los niveles de Ácidos Biliares séricos pre y post prandiales en caninos sanos así como también en caninos con sospecha de enfermedad hepática primaria anictérica u otras patologías vinculadas en busca de obtener los propios valores de referencia del laboratorio de la Facultad de Veterinaria.

HIPÓTESIS

La hipótesis a demostrar es que, en animales con enfermedad hepática primaria anictérica u otras patologías vinculadas, los niveles de Ácidos Biliares séricos post prandiales aumentan de manera significativa en comparación con los niveles basales a diferencia de los animales sanos, donde la variación en la concentración de Ácidos Biliares pre y post prandial no es tan marcada.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente ensayo se realizó en el Hospital de Facultad de Veterinaria ubicada en Alberto Lasplaces 1550 en la ciudad de Montevideo, Uruguay; en el mes de julio de 2012, previa aprobación por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (C.H.E.A.).

Diseño Experimental

Se trabajó con una población n=8 de caninos adultos clínicamente sanos. El peso promedio de los animales fue de 18.92 ± 7.53 kg. Se tomó esta población como grupo control (C) de animales sanos.

Para la población de animales enfermos se realizó un relevamiento de casos clínicos de la consulta de gastroenterología del Centro Hospitalario de Facultad de Veterinaria entre los años 2011 y 2012. Se seleccionaron aquellos pacientes con diagnóstico presuntivo de enfermedad hepática anictérica y otras patologías vinculadas (ver tabla III).

Tabla III. Datos pacientes enfermos.

Nº de Ficha	Raza	Sexo	Edad	Signos clínicos
0176/04	Doberman	Hembra castrada	8 años	Dificultad para incorporarse.
0694/98	Cruza	Macho	16 años	Pérdida rápida y progresiva de audición, visión y olfato. Se cae cuando defeca. Choca contra objetos.
1329/11	Yorkshire	Hembra	4 meses	Estado mental ausente. Choca contra objetos. Marcha compulsiva. Gira siempre en sentido horario. Se apoya contra las paredes. Reflejo de amenaza ausente.
1462/11	Labrador	Hembra	6 años	Emesis color oscuro sin olor.
1929/05	Cruza	Macho	8 años	Heces frecuencia elevada y volumen disminuido con tenesmo.
970/12	Boxer	Macho	9 meses	Vómitos, diarrea, dolor abdominal. Ascitis.

Extracción y Preparación de Muestras

Luego de un ayuno de 12 horas de alimentos sólidos se trasladó a los animales hacia el Hospital de Facultad de Veterinaria. Se los identificó individualmente y se registró su peso antes de la extracción de sangre en el consultorio de enfermería.

Para realizar la extracción de sangre (ver figura 8) se siguió el mismo protocolo para todos los animales, se preparó la zona rasurando el pelo y desinfectando la zona de venipunción con alcohol 70° para una mejor visualización de la vena cefálica. Se utilizó aguja 21 G y jeringas de 5 cc, se extrajeron 3 cc que se colocaron en tubos secos identificados y rotulados que fueron enviados al laboratorio, identificados como muestra N°1.

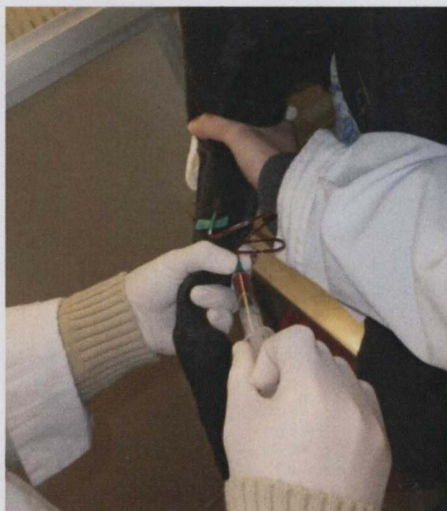


Figura 8. Extracción de muestra pre prandial, Julio de 2012.

Luego de extraer la sangre de todos los animales, se les administró el alimento a/d de Hill's* (Prescription Diet® a/d® Canine/Feline Critical Care, Hill's Pet Nutrition Inc., Topeka, Kansas, EE.UU.) (ver figura 11 en anexos) de forma individual, dos cucharadas soperas (aproximadamente 40 gramos, equivalente a 44,87Kcal de Energía Metabolizable) para cada animal (ver figura 9). Dos horas después se procedió a una nueva extracción de sangre para la determinación de Ácidos Biliares postprandial, identificada como muestra N°2 (ver figura 10).

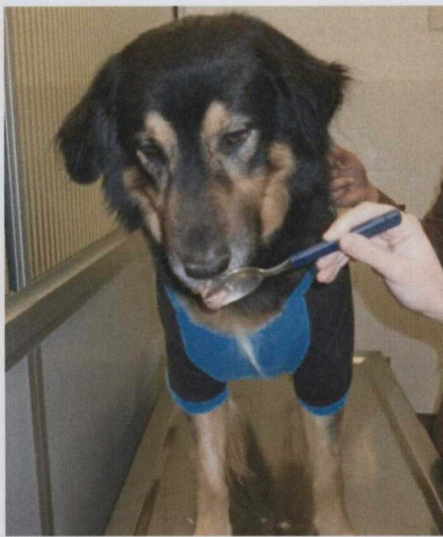


Figura 9. Administración de a/d.

***a/d** Es un complemento nutricional para pacientes durante el periodo de recuperación posterior a enfermedades graves o cirugías, período en el cual sufren cambios metabólicos importantes. Dicho alimento es rico en energía y nutrientes. Es el alimento de elección por ser rico en proteínas, grasas y calorías (ver tablas IX y X en anexos)



Figura 10. Muestras de sangre pre y post prandiales.

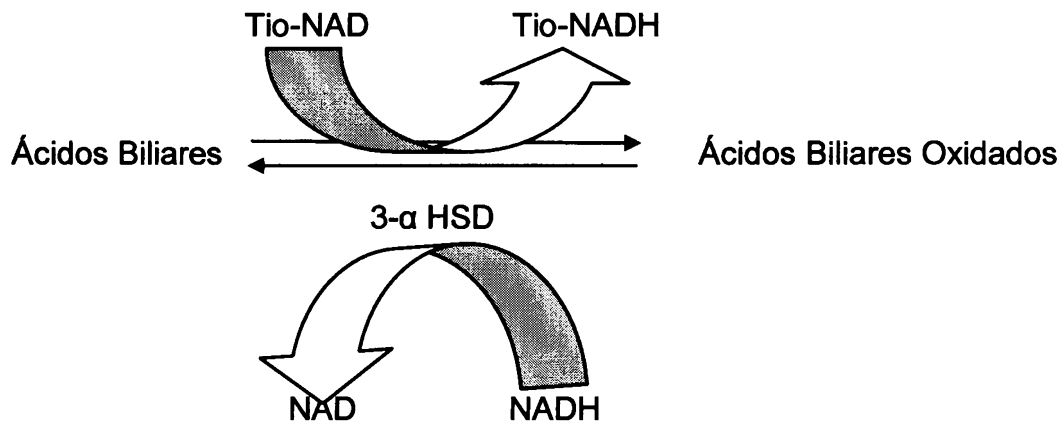
Determinación Sérica de Ácidos Biliares

La determinación de Ácidos Biliares se realizó en suero utilizando el método enzimático-colorimétrico del kit comercial Spienreact (Spinreact S.A. Crta. Sta. Coloma, 7-E 17176 St. Esteve de Bas, Girona, España).

Las muestras fueron mantenidas a temperatura ambiente hasta la retracción del coágulo, y posteriormente centrifugadas (centrífuga Hsiangtai CN-1050, New Taipei City, Taiwan) a 2000 rpm durante 15 minutos para la separación del suero. Luego se almacenó a 4°C hasta el momento de la determinación.

Principio del ensayo:

En presencia de Tio-NAD, la enzima 3 alfa hidroxisteroide deshidrogenasa (3 alfa HSD) convierte los ácidos biliares a 3-keto esteroides y Tio-NADH. La reacción es reversible, y la 3 alfa HSD se puede convertir a 3 keto esteroides y Tio-NADH a ácidos biliares y Tio-NAD. En presencia de exceso de NADH el ciclo de la enzima ocurre eficientemente y la medición de la formación de Tio-NADH es determinada midiendo el cambio específico de absorbancia a 405 nm.



Calibración:

Previo a la realización de la prueba se procedió a la calibración del espectrofotómetro (Metrolab, 1600 plus, Buenos Aires, Argentina) con la solución liofilizada de calibrador de 76,6 $\mu\text{mol/L}$.

Reactivos:

Tabla IV. Reactivos utilizados en la determinación cuantitativa de los Ácidos Biliares Totales.

R1	Tampón de Good, pH 4.0	
	Tío -NAD	1.0g/L
	Tritón-100	0.1% (v/v)
	Azida de sodio	0.2% (w/v)
R2	Tampón de Good, pH 9.3	
	NADH	6.0g/L
	3- α HSD	12 KU/L
	Azida de sodio	0.5% (w/v)
	Estabilizadores	

Procedimiento

Las condiciones del ensayo fueron, una longitud de onda de 405nm, una cubeta de paso de luz de 1cm, una temperatura constante de 37°.

Se reguló el instrumento a 0 con agua destilada.

Se pipetearon en una cubeta, como se indica en la tabla V.

Tabla V. Condiciones del ensayo.

	Patrón	Muestra
R1	750 µL	750 µL
R2	250 µL	250 µL
Patrón	10 µL	----
Muestra	----	10 µL

Sensibilidad: El nivel mínimo detectable que se puede distinguir desde 0 es de 1.47µmol/L.

Junto con las muestras, se analizó un suero control para verificar que todos los pasos seguidos fueron realizados correctamente y que el funcionamiento del analizador fue el adecuado.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados utilizando el programa Stata y el test de Wilcoxon para datos pareados que determina como varían en un mismo individuo antes y después. Este test es una prueba no paramétrica.

También se estimó el Poder de la prueba.

RESULTADOS

En el grupo de los animales sanos obtuvimos una media pre prandial de 9.825 $\mu\text{mol/L}$ y una post prandial de 9.887 $\mu\text{mol/L}$, dando una diferencia de 0.624 $\mu\text{mol/L}$. El desvío estándar pre prandial fue de 6.662 $\mu\text{mol/L}$ y el post prandial 7.868 $\mu\text{mol/L}$. El valor mínimo obtenido fue de 4.7 $\mu\text{mol/L}$ pre prandial y 3.7 $\mu\text{mol/L}$ post prandial. El valor máximo fue de 24.2 $\mu\text{mol/L}$ pre prandial y 27.8 $\mu\text{mol/L}$ post prandial (ver tabla VI).

En el grupo de los enfermos la media pre prandial fue de 41.05 $\mu\text{mol/L}$ y el post prandial 62.233 $\mu\text{mol/L}$, dando una diferencia de 21.183 $\mu\text{mol/L}$. El desvío estándar pre prandial fue de 66.185 $\mu\text{mol/L}$ y post prandial 90.233 $\mu\text{mol/L}$. El valor mínimo fue 2.3 $\mu\text{mol/L}$ preprandial y 1.9 $\mu\text{mol/L}$ el post prandial. El valor máximo fue 165 $\mu\text{mol/L}$ el pre prandial y 188.8 $\mu\text{mol/L}$ el post prandial (ver tabla VII).

Se realizó el test de Wilcoxon para grupos pareados. Este test se utiliza como alternativa a la prueba t de Student cuando no se puede suponer la normalidad de las muestras. Observamos que el grupo de los pacientes sanos presentó una probabilidad de $P=0.8886$, no encontrándose diferencia significativa en este grupo en los valores pre y postprandial. El grupo de los enfermos presentó una probabilidad $P=0.0747$, este valor de P marca una tendencia hacia una diferencia significativa entre los valores pre y postprandiales, para considerar significativa dicha diferencia el nivel de significación el valor de P debe ser < 0.05 .

La prueba t con varianzas desiguales presento una $P= 0.3342$ podemos decir que la diferencia entre ambos grupos no es significativa.

El poder de la prueba fue de 18.7%.

Tabla VI. Resultados de laboratorio de las muestras procesadas de la población canina sana pre y post prandiales ($\mu\text{mol/L}$).

Nº Animal	Pre prandial	Post prandial
1	6.2	6.8
2	4.7	4.3
3	24.2	27.8
4	15.5	12.1
5	7.6	3.7
6	6.9	5.2
7	6.9	11.4
8	6.6	7.8

Tabla VII. Resultados de laboratorio de las muestras pre y post prandiales procesadas en la población de caninos con diagnóstico presuntivo de patologías hepáticas anictéricas y otras patologías vinculadas ($\mu\text{mol/L}$).

Nº Ficha	Pre prandial	Post prandial
0176/04	2.4	4.0
0694/98	3.7	6.4
1329/11	68.9	188.8
1462/11	4.0	4.3
1929/05	2.3	1.9
970/12	165.0	168.0

En la Tabla VIII. Se comparan las medias y desvíos obtenidos en los grupos estudiados. Las medias pre prandiales y post prandiales no presentaron variaciones significativas en el grupo C. Las variaciones encontradas en las medias del grupo E muestran diferencias significativas. Los rangos (valor mínimo y máximo) obtenidos evidencian valores marcadamente aumentados en ambas muestras de grupo E, en comparación al grupo C.

Tabla VIII. Comparación de las medias y desvíos obtenidos en el grupo de caninos sanos y en caninos enfermos ($\mu\text{mol/L}$).

	Pre prandial	Rango	Post prandial	Rango
Caninos Sanos (C)	9.825 \pm 6.662	4.7 \pm 24.2	9.887 \pm 7.868	3.7 \pm 27.8
Caninos Enfermos (E)	41.05 \pm 66.185	2.3 \pm 165	62.233 \pm 90.233	1.9 \pm 188.8

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los animales sanos se encontraron en un rango que va desde 6.2 - 24.2 $\mu\text{mol/L}$ para la muestra pre prandial, siendo normal de acuerdo a la bibliografía internacional consultada. Bush (1999) establece dentro de los valores normales $< 30\mu\text{mol/L}$ valores pre prandiales y $< 50\mu\text{mol/L}$ post prandiales; en contrapartida el laboratorio Idexx utiliza rangos que van desde $< 12 \mu\text{mol/L}$ pre y post prandiales en animales sanos y $> 25 \mu\text{mol/L}$ pre y post prandial en animales con marcada disfunción hepática. Sodikoff (2002) señala que los valores de ABs pre prandiales para animales sanos se deben encontrar por debajo de $10\mu\text{mol/L}$, mientras que los valores de Ácidos Biliares post prandiales deben ubicarse por debajo de los $25\mu\text{mol/L}$.

Dentro del grupo de individuos sanos, en 4 de ellos, se presentaron valores de Ácidos Biliares pre prandiales o en ayunas, mayores que los de ABs post prandiales. Según Hall y German (2012) a veces se encuentran disminuciones confusas en las muestras post prandiales; algunas posibles explicaciones incluyen la variabilidad inherente, el fallo en el almacenamiento de los ABs nuevos en la vesícula biliar, la contracción incompleta de la vesícula biliar cuando hay ingestión de alimentos y el metabolismo bacteriano intestinal. Isaac (2007) desarrolla las siguientes explicaciones. Los perros en ayunas solo almacenan un 30 a 50% de la bilis neoformada en la vesícula biliar, ésta variabilidad puede impactar en las concentraciones de los ABs pre prandiales. Por otro lado describe que la liberación de la bilis vesicular estimulada por la comida varía entre el 5 y el 65% lo que puede afectar la concentración de ABs post prandiales. También argumenta que la lipemia postprandial puede predisponer a la hemólisis de la muestra, reduciendo en forma artificial el valor total de los ABs medidos. Un factor importante a tener en cuenta es que las lipoproteínas pueden unirse a las sales biliares y en la centrifugación de una muestra postprandial lipémica probablemente se elimine también los ABs ligados, esto podría causar valores de ABs post prandiales menores que ABs pre prandiales en muestras séricas reducidas. Otra causa probable es atribuida a que la hipermultiplicación bacteriana intestinal acrecienta en gran medida los ABs sin conjuguar, estos difunden en forma pasiva hacia la circulación portal durante el ayuno y son removidos de la sangre con menor eficiencia por el hígado. Posteriormente ingresan a la circulación periférica aumentando los niveles de ABs pre prandiales. Luego que el flujo biliar es estimulado por la comida, los ABs conjugados son removidos con eficiencia por la circulación portal, y el incremento post prandial fisiológico del flujo sanguíneo facilita la extracción de los ABs sin conjuguar desde la circulación periférica. Esto podría causar una menor concentración de ABs post prandiales en comparación con los ABs en pre prandiales.

Para los casos de pacientes con diagnóstico presuntivo de enfermedad hepática la media pre prandial se ubicó en $41,05 \mu\text{mol/L}$ y la post prandial en $62,23 \mu\text{mol/L}$, estos valores se encuentran en concordancia con los valores encontrados en la bibliografía consultada para pacientes con enfermedad hepática. Según Hall y German (2012) los rangos de referencia para los Ácidos Biliares son discutidos, no solo por los problemas metodológicos de algunos laboratorios, sino también por el efecto de algunas hepatopatías secundarias. El criterio inicial de menor a $5 \mu\text{mol/L}$

pre prandial, y menor a 10 $\mu\text{mol/L}$ post prandial es muy estricto e individuos clínicamente normales pueden tener concentraciones de los ABs que doblan estos valores. Concentraciones mayores a 25 $\mu\text{mol/L}$ tanto para pre prandiales como para post prandiales se correlacionan con la presencia de lesiones histológicas, aunque en algunos casos estos pueden ser debidos a hepatopatías secundarias. Según Isaac (2007) valores tanto pre prandiales como post prandiales superiores a 25 $\mu\text{mol/L}$ suelen asociarse con cambios histopatológicos. Richter (1998) señala que cuando las concentraciones post prandiales superan los 30 $\mu\text{mol/L}$ se justifican los exámenes diagnósticos adicionales como la biopsia hepática. Sodikoff (2002) establece que valores superiores a 35 $\mu\text{mol/L}$ implican una grave disfunción hepática. Para Kraft (2000) valores superiores a 20 y menores a 50 $\mu\text{mol/L}$ son presuntivos de enfermedad hepática con colestasis, mientras que los valores entre 10 y 20 $\mu\text{mol/L}$ se consideran como resultados dudosos.

Se comprobó la importancia de la utilización de dos muestras, una en ayunas (12 horas) y otra post prandial (dos horas luego de la ingesta). Esto radica en que, en pacientes con sospechas de Shunt, los valores en ayunas pueden ser normales debido a que un ayuno prolongado permite al hígado extraer los ABs de la circulación. Sin embargo, las concentraciones post prandiales son marcadamente anormales, por lo tanto una sola muestra dejaría de detectar estos casos (Schlesinger y Rubin, 1993).

Según Bush (1999) perros con cirrosis o Shunt portosistémicos presentan ocasionalmente valores bajos en ayunas y los valores post prandiales se encuentran marcadamente aumentados.

En el presente trabajo, se observó que en el grupo de los pacientes sanos no se encontraron diferencias significativas entre los valores pre y post prandiales. Por el contrario en el grupo de los enfermos hay una marcada tendencia hacia una diferencia significativa entre los valores pre y post prandiales.

Se estimó el Poder de la prueba a modo de comprobar si los resultados obtenidos eran por azar, el cual se encontró en 18.74%, aunque es bajo podemos decir que existe diferencia entre ambos grupos, a pesar de que población utilizada fue pequeña, lo que sugiere que con una muestra mayor el valor sería significativo.

Una vez finalizado el ensayo pudimos concluir que el Test de Estimulación de Ácidos Biliares debe ser realizado en diferentes etapas de la enfermedad porque las hepatopatías son un proceso dinámico y el Test de Estimulación de Ácidos Biliares evalúa un momento de la enfermedad.

Uno de los objetivos inicialmente planteados era obtener valores de referencia del Test de estimulación de Ácidos Biliares para su uso de rutina en el laboratorio de Análisis Clínicos de Facultad de Veterinaria. Al ser nuestro "n" utilizado tan pequeño no fue posible estadísticamente determinar un rango de referencia confiable que sea representativo de la población. Según Piaggio (2012), para que esto sea posible necesitaríamos una población no menor a 100 animales y el no contar con los

recursos económicos suficientes, significó una limitante para cumplir con el objetivo planteado.

En síntesis, no debemos utilizar este test como una prueba aislada, sino una herramienta útil para complementar los exámenes de rutina como ser el enzimograma hepático, el diagnóstico por imagen y biopsia hepática, para así llegar a un diagnóstico definitivo.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos e hipótesis planteadas inicialmente, podemos decir que esta prueba es importante para el diagnóstico de las patologías mencionadas siempre que se utilice combinada con otras pruebas diagnósticas.

Lo que pudimos concluir es que el Test de Estimulación de Ácidos Biliares, tiene real valor siempre que se utilicen 2 muestras, una muestra en ayunas y otra muestra post prandial, esto mejora la sensibilidad de la prueba.

Es importante destacar que esta prueba debería repetirse en el tiempo, debido a que las hepatopatías son un proceso dinámico y el Test de Estimulación de Ácidos Biliares evalúa un momento determinado de la enfermedad. De esta manera se puede seguir la evolución y el tratamiento a instaurar.

La prueba presenta mayor utilidad cuando existe sospecha de enfermedad, pero si los ABs se encuentran dentro de los rangos normales no debemos descartar la enfermedad, sino que deberíamos seguir investigando.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bain, P. (2005) Hígado, En: Latimer, K., Mahaffey, E., Prasse, K. Duncan & Prasse's Patología clínica veterinaria 4a. ed. Barcelona, Multimedia pp. 237-262.
2. Bloom, W.; Fawcett, D. (1995) Tratado de Histología. 12ª. ed. Madrid, Interamericana McGraw-Hill, 1044 p.
3. Bush, B (1999) Nutrientes y metabolitos. En: Bush, B. Interpretación de los análisis de laboratorio paraclínicos de pequeños animales. Madrid, Harcourt Brace, pp. 263-362.
4. Dial, S (1995) Clinicopatologic evaluation of the liver. The veterinary clinics of North America. Small Animal Practice 25:(2):257-273
5. Dyce, K.M.; Sack, W.O.; Wensing, C.J.G. (1999) Anatomía veterinaria. 2ª ed. México, Mc Graw-Hill Interamericana, 952 p.
6. El blog del hígado. Disponible en: <http://higado-med-uaa.blogspot.com/>
Fecha de consulta: 24/7/2012.
7. Engelking, L., Anwer, M. S. (1999) Hígado y árbol biliar. En: Anderson, N. Gastroenterología veterinaria. 2a. ed. Buenos Aires, Inter-médica, pp. 195-253.
8. Ettinger, S.; Feldman, E (2007) Medicina Interna Veterinaria. 6ª. ed. Barcelona, Elsevier, Vol. 2.
9. Fossum, T. (2009) Cirugía del Hígado. En: Fossum, T. Cirugía en Pequeños Animales. 3a. ed. Barcelona, Elsevier, pp. 531-559.
10. Geneser, F. (2006) Aparato digestivo. En: Geneser, F. Histología: sobre bases moleculares. 3ª ed. Buenos Aires, Médica Panamericana, pp. 465-533.
11. González, J. (1995) Hígado y secreción biliar. En: García Sacristán, A. y col. Fisiología Veterinaria Madrid, Interamericana pp. 586-598.
12. Guyton, A.; Hall, J. (2011) Hígado como órgano. En: Guyton y Hall, Tratado de Fisiología Médica, 12ª. ed., Amsterdam, Elsevier, pp. 837-842.
13. Hall, E.; German, A. (2012) Evaluación Laboratorial de la Enfermedad Hepática. En: Villiers, E.; Blackwood, L. Manual de Diagnóstico de Laboratorio en Pequeños Animales. Barcelona, Lexus, pp. 259-291.
14. Herdt, T. (2009) Secreciones del Aparato Digestivo, En: Cunningham, J.; Klein, B., Fisiología Veterinaria, 4ª. ed., Barcelona, Elsevier, pp. 327-336.

15. Isaac, K (2007), Enzimas hepatobiliares y de músculo esquelético y prueba de función hepática. En: Meyer, D., Hervey, J. Medicina laboratorial veterinaria interpretación y diagnosis. 3ª. ed. Barcelona, Multimédica, pp. 249-281.
16. Johnson, S. (1999) Hígado y árbol biliar. En: Anderson, N. Gastroenterología veterinaria, 2a. ed., Buenos Aires, Inter-médica, pp. 462-519.
17. Johnson, S.; Rogers, W.; Bonagura, J.; Caldwell, J. (1985) Determination of serum bile acid in fasting dogs with hepatobiliary disease. Am J Vet Res; 46(10):2048-53.
18. Johnson, S.; Sherding, R. (2002) Enfermedades hepáticas y biliares. En: Birchard, S.; Sherding, R. Manual clínico de procedimientos en pequeños animales. 2a. ed. Madrid, Mc Graw-Hill, Vol.1.
19. Junqueira, L.C.; Carneiro, J. (2006) Histología básica. 6a. ed. Barcelona, Masson, 488p.
20. Kelly, W.R. (1990) El hígado y sistema biliar. En: Jubb K.V.F.; Kennedy, P.C.; Palmer, N. Patología de los animales domésticos. 3a. ed. Montevideo, Hemisferio Sur, Vol. 2.
21. Kelly, W.R. (2002) Enfermedad del hígado en grandes y pequeños rumiantes. Jornadas Uruguayas de Buiatría, XXX, Paysandú, Uruguay, p. 1-6.
22. König, E.; Sautet, J.; Liebich, H-G. (2005) Aparato Digestivo. En: König, E.; Liebich H-G. Anatomía de los Animales Domésticos. 2a. ed. Madrid, Médica Panamericana, Vol. 2.
23. König, E; Liebich, H-G. (2007) Digestive System (apparatus digestorius). En: König, E; Liebich, H-G. Veterinary Anatomy of Domestic Mammals, Textbook and Colour Atlas. 3a. ed. Munich, Schattauer pp. 301-368.
24. Kraft, W y col. (2000) Hígado. En: Kraft, W y col. Diagnóstico de laboratorio clínico en veterinaria, Madrid, EDIMSA, pp. 112-133.
25. Maclachlan, N.J.; Cullen, J.M. (1995) Liver, Biliary System, and Exocrine Pancreas. En: Carlton, W.; McGavin, M.D. Thomson's Special Veterinary Pathology. 2ª ed. St. Louis, Mosby, pp. 81-115.
26. Nelson, D.; Cox, M. (2009) Fosforilación oxidativa y fotofosforilación. En: Nelson, D.; Cox, M. Lehninger Principios de Bioquímica. 5a. ed. Barcelona, Omega, pp. 707-772.

27. Nelson, R.; Couto, C (2010) Medicina Interna de Pequeños Animales. 4a. ed. Barcelona, Elsevier, 1467 p.
28. Pratschke, K. (2010) Shunt portosistémico en el perro: generalidades de diagnóstico y opciones terapéuticas. *Veterinary Focus* 20(3):9-15.
29. Richter, K. (1998) Enfermedades del Hígado. En: Tams, T. Manual de gastroenterología en animales pequeños. Buenos Aires, Intermédica, pp. 279-344.
30. Rogers, W. (1986) Diseases of the Liver. En: Jones, B.; Liska, W. Canine and Feline Gastroenterology. Saunders, Philadelphia, pp. 345-379.
31. Ruland, K.; Fischer, A.; Hartmann, K. (2010) Sensitivity and specificity of fasting ammonia and serum bile acids in the diagnosis of portosystemic shunts in dogs and cats. *Vet clin Pathol*, 39(1):57-64.
32. Sallmann, H.-P.; Fuhrmann, H. (2005) Aspectos fisiológicos de la función hepática. En: Engelhardt, W.; Breves, G. Fisiología Veterinaria. Zaragoza, Acribia, pp. 447-459.
33. Schlesinger, D.; Rubin, S. (1993) Serum bile acid and the assessment of hepatic function in dogs and cats. *Can Vet J* 1993; 34:215-220.
34. Shunt portosistémico. Disponible en: <http://www.angorasturcos.es/shunt.htm>
Fecha de consulta: 3/7/2012.
35. Simpson, J.; Else, R. (1991) Diseases of the Liver. En: Simpson, J.; Else, R. Digestive Disease in the Dog and Cat. Oxford, Blackwell Scientific Publications, pp. 204-249
36. Síntesis de sales biliares. Disponible en:
<http://reocities.com/CapeCanaveral/launchpad/9071/Bile.html> Fecha de consulta: 21/7/2012.
37. Stinson, A.; Calhoun, M. (1994) Sistema digestivo. En Dellmann, H-D. Histología Veterinaria. 2a. ed. Zaragoza, Acribia, pp. 177-221.
38. Stockham, S.; Scott, M. (2008) Liver function. En: Stockham, S.; Scott, M. Fundamentals of veterinary clinical pathology. 2a. ed. Iowa, Blackwell, pp. 676-706.
39. Strombeck, D.; Juilford, W. (1995) Enfermedades Digestivas de los pequeños animales. 2ª ed. Buenos Aires, Intermédica, 796p.

40. Tabla de contenido nutricional. Disponible en:
<http://www.hillsproducts.com/Nutritionals.aspx/es-ES/PD/a-d-canine-feline/original/lata> Fecha de consulta: 24/7/2012.
41. Willard, M. (2006) Shunt Portosistémicos Congénitos. Revista de Medicina Veterinaria. (Buenos Aires). 87 (5):207-213.
42. Willard, M; Tvedten, H. (2004) Trastornos gastrointestinales, pancreáticos y hepáticos, En: Willard, M., Tvedten, H. Diagnóstico clínicopatológico práctico en los pequeños animales. 4a. ed. Buenos Aires, pp 208-247.
43. Winkler, J.; Bohling, M.; Tillson, D.; Wright, J.; Ballagas, A. (2003) Portosystemic shunts: diagnosis, prognosis, and treatment of 64 cases (1993-2001). J Am Anim Hosp Assoc; 39(2):169-85.

ANEXOS

Tabla IX. Tabla de información nutricional de alimento a/d.

	Como alimento	Materia seca⁴	por 100 kcal EM⁵
Proteína	10,6 %	44,17 %	9,46 g
Grasa	7,3 %	30,42 %	6,52 g
Carbohidratos (ELN)	3,7 %	15,42 %	3,3 g
Fibra (bruta)	0,3 %	1,25 %	267,86 mg
Humedad	76 %		67,86 g
Calcio	0,24 %	1 %	214,29 mg
Fósforo	0,24 %	1 %	214,29 mg
Sodio	0,19 %	0,79 %	169,64 mg
Potasio	0,22 %	0,92 %	196,43 mg
Magnesio	0,03 %	0,12 %	26,79 mg
Glutamina/glutamato	1,24 %	5,17 %	1,11 g
Arginina	0,57 %	2,37 %	508,93 mg
Aminoácidos de cadena ramificada	1,54 %	6,42 %	1,38 g
Taurina	0,15 %	0,62 %	133,93 mg
Ácidos grasos omega-3	0,63 %	2,62 %	562,5 mg
Ácidos grasos omega-6	1,48 %	6,17 %	1,32 g
Hierro	65,7 mg/kg	273,75 mg/kg	5,87 mg
Zinc	61,9 mg/kg	257,92 mg/kg	5,53 mg
Cobre	5,7 mg/kg	23,75 mg/kg	0,51 mg
Tiamina	37,6 mg/kg	156,67 mg/kg	3,36 mg

Riboflavina	11 mg/kg	45,83 mg/kg	0,98 mg
Pantotenato	22,7 mg/kg	94,58 mg/kg	2,03 mg
Niacina	57,7 mg/kg	240,42 mg/kg	5,15 mg
Ácido fólico	0,76 mg/kg	3,17 mg/kg	0,07 mg
Vitamina A	33630 ME/kg		33630 ME/kg
Vitamina D	400 ME/kg		400 ME/kg
Vitamina E	285 mg/kg	1188 mg/kg	25,45 mg

Tabla X. Energía metabolizable de alimento a/d.

ENERGÍA METABOLIZABLE

	Como alimento	Materia seca⁴
kcal/100 g o /100 ml	112	467
kJ/100 g	469	1956
Kcal/lata	175	
kcal/g o /ml	1,1	
Calorías procedentes de las proteínas	33 %	
Calorías procedentes de la grasa	55 %	
Calorías procedentes de los carbohidratos (ELN)	12 %	
pH urinario	6,7 - 7,3	

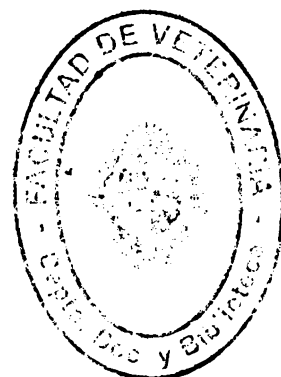


Tabla de información nutricional.

(Fuente: <http://www.hillsproducts.com/Nutritionals.aspx/es-ES/PD/a-d-caninefeline/original/lata>).

IDEXX SNAP® Bile Acids Test

Interpreting Test Results

		Postprandial Result		
		< 12 $\mu\text{mol/L}$	12–25 $\mu\text{mol/L}$	> 25 $\mu\text{mol/L}$
Preprandial Result	< 12 $\mu\text{mol/L}$	Normal; consistent with sufficient hepatic function	Retest at a later time (days to weeks) if liver dysfunction is still suspected and patient is anicteric	Consistent with decreased hepatic function
	12–25 $\mu\text{mol/L}$	Retest at a later time (days to weeks) if liver dysfunction is still suspected and patient is anicteric*	Retest at a later time (days to weeks) if liver dysfunction is still suspected and patient is anicteric	Consistent with decreased hepatic function
	> 25 $\mu\text{mol/L}$	Decreased hepatic function possible Retest at a later time if liver dysfunction is still suspected and patient is anicteric.* Inadequate fast possible.	Retest at a later time (days to weeks) if liver dysfunction is still suspected and patient is anicteric	Consistent with decreased hepatic function

*Preprandial values will occasionally exceed postprandial values. This is usually attributed to spontaneous gall bladder contraction or preprandial specimen obtained prior to a sufficient fast. When preprandial values exceed the postprandial values, always check the pre- and postprandial samples are properly identified.

The recommendations contained in this document are intended to provide general guidance only. As with any diagnosis or treatment, you should use clinical discretion with each patient based on a complete evaluation of the patient, including history, physical examination and complete laboratory profile.

Practice what's possible™

IDEXX
LABORATORIES

SNAP and Practice what's possible are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. in the United States and/or other countries.
© 2005 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. • 09-65438-00 (9)

One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092 USA • idexx.com

Figura 11. Valores de referencia de Laboratorio Idexx.

Idexx SNAP Bile Acids Test. Interpreting Test Results.

(Fuente: http://www.idexx.com/pubwebresources/pdf/en_us/smallanimal/snap/bileacids/interpret-snap-bile-acids-results.pdf)