

XIV Congreso Andaluz de Veterinarios

linfoplasmocitaria, perivasculitis linfoplasmocitaria y fenómenos de degeneración en perros con fases avanzadas de la enfermedad.

4) Mediante la técnica PCR se puede demostrar la presencia de *Leishmania infantum* en el miocardio de perros con CanL y aumento de cTnI y NT-proBNP.

REFERENCIAS

1.- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L et al. Directions for the diagnosis clinical staging treatment and prevention

of canine leishmaniosis: *Veterinary Parasitology*. 2009; 165: 1-18.

2.- Rosa FA, Leite JHAC, Braga ET, Moreira PRR, Baltazar FH et al. Cardiac lesions in 30 Dogs Naturally Infected With *Leishmania infantum* chagasi: *Veterinary Pathology*. 2014, 51(3): 603-606.

3.- Silvestrini P, Piviani M, Alberola J, Rodríguez A, Planellas M, Roura X et al. Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with leishmaniosis: correlation with age and clinicopathologic abnormalities: *Veterinary Clinic Pathology*. 2012, 41(4): 568-574.

4.- Oyama MA, Solter PF. Validation of an immunoassay for measurement of canine cardiac

troponin-I: *Journal of Veterinary Cardiology*. 2004; 6: 17-24.

5.- Silva VBC, Sousa MG, Araújo CRA, Lima ABG, Carareto R. Cardiac biomarkers in dogs with visceral leishmaniosis: *Archivos de Medicina Veterinaria*. 2016; 48: 269-275.

6.- Raffan E, Loureiro J, Dukes-McEwan J, Fonfara S et al. The Cardiac Biomarker NT-proBNP Is Increased in Dogs with Azotemia: *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2009; 23(6): 1184-1189.

7.- Sharkey LC, Berzina I, Ferasin L. Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure: *Journal of the American Veterinary Association*. 2009; 234: 767-770.

Estudio de la concentración urinaria de la lipocalina asociada a gelatinasa neutrofílica (NGAL) para el diagnóstico temprano de enfermedad renal en perros con leishmaniosis

AUTORES: Lucía Beatriz Castellero Gómez¹, Pablo Charlo Casado¹, Marina Gómez Castro¹, Javier Salado Tato², Patricia Ruiz Tapia¹, José Ignacio Cristóbal Verdejo¹, Rafael Barrera Chacón¹ – 1 Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura, 2 Clínica Veterinaria Montemar (Alcázar)

INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal constituye una de las enfermedades más diagnosticada en perros, con una prevalencia del 0,5-0,7%¹. Una causa frecuente es la leishmaniosis², y España se considera un país endémico, al estar en la Cuenca del Mediterráneo³. Es responsable de un proceso inflamatorio que comprende el desarrollo de nefritis y glomerulonefritis progresiva. Ello produce un cuadro sintomático variable, que puede comenzar con proteinuria leve, y concluir en enfermedad renal crónica (ERC) irreversible, principal causa de mortalidad en perros con esta enfermedad. Esch y col., en 2015⁴, demostraron que perros con leishmaniosis clínicamente sanos pueden presentar el mismo tipo de lesión renal histológica que los enfermos (hipercelularidad mesangial, hipersegmentación glomerular, nefritis intersticial y depósito de colágeno).

Habitualmente, para el diagnóstico de la ERC se recurre a la determinación de urea y creatinina plasmáticas, densidad urinaria y proteinuria. Sin

embargo, estos parámetros presentan limitaciones para el diagnóstico, ya que aumentan cuando se ha producido una avanzada alteración de la funcionalidad. Es imprescindible el estudio de biomarcadores de enfermedad renal tempranos, que permitan la instauración de un tratamiento que alargue la supervivencia del animal.

Actualmente se está estudiando la lipocalina asociada a gelatinasa neutrofílica (NGAL), glicoproteína lisosomal de las células tubulares proximales. Se considera marcador de daño tubular temprano, estudiado en daño renal agudo (DRA) y en ERC en perros.

Se ha establecido como hipótesis comprobar la utilidad de la concentración de NGAL plasmático y urinario como biomarcador temprano de enfermedad renal en perros con leishmaniosis⁵.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio clínico prospectivo en 62 perros, pacientes del

Hospital Clínico Veterinario (HCV) de la Universidad de Extremadura (UEx) (Comité de Ética de Experimentación Animal de la UEx).

Los animales fueron clasificados en: Grupo Control: 10 animales sanos, negativos a leishmaniosis.

Grupo Problema: 52 perros con leishmaniosis, clasificados según la Guía LeishVet³:

Fase I (N = 14), Fase II (N = 12), Fase III (N = 12) y Fase IV (N = 14).

En todos se realizó hematología completa, bioquímica plasmática (concentración de urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, calcio, fósforo, cistatina C, GGT y NGAL) y análisis de orina, incluido UP/C, densidad urinaria y concentración de NGAL (kit específico de NGAL canino Abcam resultados expresados en ratio con creatinina urinaria, uNAG/Cr).

El diagnóstico de leishmaniosis se llevó a cabo mediante visualización del parásito en muestras de ganglio y/o médula ósea y por enzimoimmunoensayo (kit Q letitest

XIV Congreso Andaluz de Veterinarios

ELISA leishmania, Laboratorios Leti, España).

Análisis estadístico: software informático estadístico SPSS versión 21.0 para Windows, licenciado para la UEx. Ha consistido en estadístico descriptivo de las variables, y análisis inferencial para investigar posibles diferencias entre grupos. Comprobada la ausencia de normalidad en la distribución mediante un test de Kolmogorov-Smirnov, la comparación entre grupos se ha efectuado con las pruebas U de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis. Diferencia significativa $P < 0,05$.

RESULTADOS

Se ha observado anemia normocítica y normocrómica discreta en las Fases I y II y más evidente en las Fases III y IV ($P < 0,001$). Se observa neutropenia en todas las Fases ($P < 0,05$).

En la bioquímica sanguínea se observa disminución del ratio albúmina/globulina en todos los grupos ($P < 0,05$), debido a un incremento de la concentración de globulinas. La concentración de albúmina tiende a disminuir, con marcada hipoalbuminemia en la Fase IV ($P < 0,001$). También se observa azoemia ($P < 0,001$) en la Fase IV, con hipercolesterolemia ($P < 0,05$) e hiperfosfatemia ($P < 0,001$).

El rango de referencia calculado para la concentración de NGAL plasmático ha sido 2,58 - 11,98 ng/mL. Los resultados obtenidos se expresan en la Figura 1. En la Fase I hay 4 perros con concentración superior al rango (28,57%), 8 perros en

la Fase II (66,66%), 7 perros en la Fase III (58,33%) y 13 perros en la Fase IV (92,86%).

En cuanto a la orina, se observa disminución de la densidad ($P < 0,001$) en la Fase IV y un incremento del ratio UP/C y uNGAL/Cr, especialmente evidente ($P < 0,001$) en las fases II, III y IV (Figura 2).

El rango descrito para el ratio uNGAL/Cr oscila entre 214,80 y 5.961,16 $\mu\text{g/g}$. Los perros con valores superiores fueron 3 perros en la Fase I (21,43%), 6 en la Fase II (50%), 11 en la Fase III (91,66%) y 14 en la Fase IV (100%). En la Fase II, tres perros (25%) presentaban un valor superior a 100.000 $\mu\text{g/g}$, en la Fase III 5 perros (41,66%) y en la Fase IV 10 animales (71,43%).

DISCUSIÓN

Se ha realizado un análisis de sangre y de orina en dos grupos de perros: uno compuesto por animales sanos (control) y otro por perros con leishmaniosis en diferentes grados, divididos según la guía Leishvet, con el fin de comprobar el comportamiento del NGAL en animales no azoémicos.

El grupo de perros sanos presentó valores analíticos normales (Laboratorio de Patología Clínica del HCV de la UEx).

Los perros enfermos presentaron resultados hematológicos, bioquímicos y de orina compatibles con la enfermedad.

Se ha observado un incremento estadístico del NGAL plasmático a partir de la Fase II, (perros no azoémicos y proteinúricos). Se detecta un incremento cuando el perro presenta proteinuria, pero aún no se ha manifestado azoemia. Por lo tanto, su capacidad de detección de enfermedad renal es más precoz que la creatinina.

Los biomarcadores plasmáticos estudiados, indicadores indirectos de la TFG, demuestran daño glomerular, corroborado por los resultados obtenidos con el UP/C. El método laboratorio más extendido para demostrar daño tubular es la densidad urinaria. En todos los grupos se observa su disminución, hasta manifestar isostenuria en los perros azoémicos (Fase IV). Estos resultados coinciden con los descritos en la bibliografía. Aunque la isostenuria se desarrolla antes que la azoemia, es difícil de interpretar, debido al amplio rango de normalidad. Por ello se hace necesario buscar biomarcadores más sensibles y capaces de diferenciar entre estados normales y patológicos de los túbulos renales.

Se han obtenido incrementos estadísticamente significativos ($P < 0,001$) para el ratio uNGAL/Cr en todos los grupos problema. Estos resultados indican que el ratio uNGAL/Cr es capaz de detectar daño tubular en perros que no muestran azoemia, e incluso en animales sin proteinuria ni sintomatología, lo que coincide con los resultados publicados por Steinbach y col. en 2014⁶. Los valores extremadamente altos de algunos

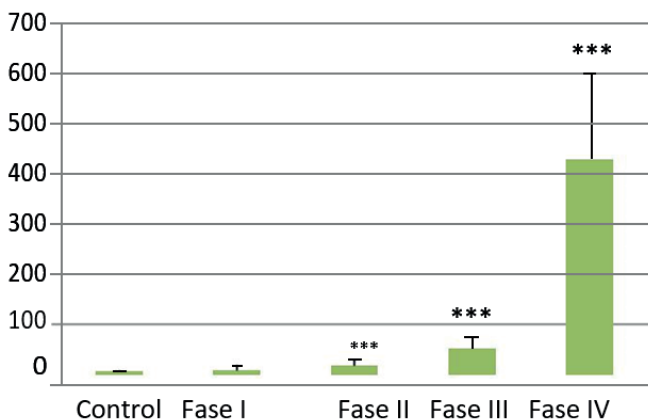


Figura 1: Concentración plasmática de NGAL en los perros Control, Fase I, Fase II, Fase III y Fase IV de la guía Leishvet. ***: $P < 0,001$.

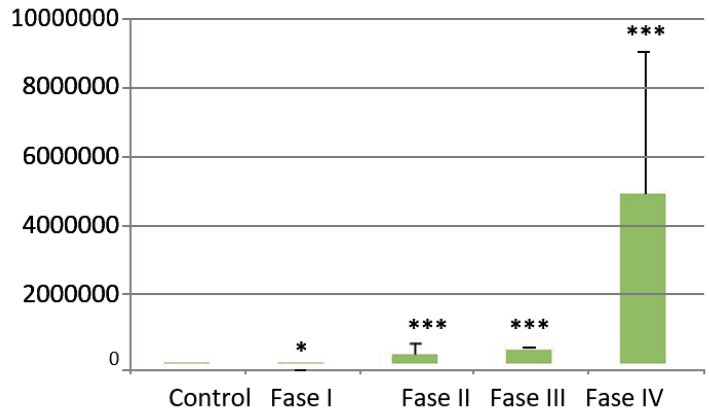


Figura 2: uNGAL/Cr en los perros Control, Fase I, Fase II, Fase III y Fase IV de la guía Leishvet. ***: $P < 0,001$.

XIV Congreso Andaluz de Veterinarios

perros explican la amplia desviación estándar de los grupos.

Los resultados obtenidos parecen demostrar que el NGAL urinario es un biomarcador de utilidad en la detección temprana de enfermedad renal, con alta fiabilidad en su interpretación. Sin embargo, para generalizar su uso en medicina canina debe desarrollarse un método económico, fiable, efectivo y fácil de usar⁷.

CONCLUSIONES

La concentración de NGAL en plasma y orina en perros con leishmaniosis, pone de manifiesto la existencia de daño tubular renal. La concentración de

NGAL plasmático detecta daño tubular en ERC en perros con leishmaniosis proteinúricos y no azoémicos. El ratio uNGAL/Cr lo detecta en perros con leishmaniosis asintomáticos, no proteinúricos y no azoémicos.

REFERENCIAS

1. Polzin DJ. A step-wise approach to managing chronic kidney disease: application of evidence based medicine. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 2013, 23: 205-215.
2. Ribeiro RA, Teixeira-Neto RG, Belo VS, Ferreira EC, Schalling HD, Silva ES. Ability of immunodiagnostic test to differentiate between dogs naturally infected with *Leishmania infantum* and *Leishmune-Vaccinate* dogs. *Vet. Res. Commun.* 2015, 39, 87-95.
3. Solano-Gallego, L. Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Grazi Pennisi, M., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. (2011). *LeishVet guidelines for the*

practical management of canine leishmaniosis. *Parasit. Vectors.* 20, 40-86.

4. Esch K, Schaut R, Lamb IM, Clay G, Morais AL, do Nascimento PR. et al. Activation of autophagy and NLR family, pyrin domain containing 3 inflammasome during *Leishmania infantum*-associated glomerulonephritis. *Am J Pathol.* 2015, 185- 192.
5. Makris K, Rizos D, Kafkas N, Haliassos A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a new biomarker in laboratory medicine. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012, 50, 1519-1532.
6. Steinbach, S., Weis, J., Schweighauser, A., Francey, T., Neiger, R. (2014). Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in dogs with acute kidney injury or chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 28, 264-269.
7. Lee J, Hu Y, Lin S, Chang T, Lin Y, Wong L et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute canine kidney injury. *BMC Vet Res.* 2012, 8, 248- 254.

Estudio retrospectivo de perros con trombocitopenia inmunomediada

AUTORES: Paula Miranda, Carmen Pineda, Ignacio López – Universidad de Córdoba

RESUMEN

La trombocitopenia inmunomediada (TIM) es una enfermedad sanguínea en la que las plaquetas son destruidas prematuramente por los macrófagos. Esto ocurre a causa de una pérdida del reconocimiento antigénico donde los autoanticuerpos se depositan sobre la superficie plaquetar desencadenando la fagocitosis. La TIM puede ser clasificada en primaria o secundaria en función de su etiología pero siempre se caracteriza por conteos plaquetarios bajos y por heterogeneidad en el fenotipo de sangrado entre los individuos afectados. Mediante este estudio retrospectivo, se ha querido comparar esa heterogeneidad clínica, la evolución de la enfermedad, el tratamiento prescrito y los posibles efectos secundarios, las enfermedades concomitantes, el tiempo de hospitalización, el tiempo de supervivencia, así como el pronóstico en siete pacientes de especie canina que padecían la enfermedad. Con este estudio hemos concluido en que existe una predisposición racial al padecimiento de la enfermedad, que existen métodos de combinación farmacológica inmunosupresora que pueden hacer que las tasas de supervivencia aumenten, que cada

paciente tiene manifestaciones clínicas sin correlación con su conteo plaquetario dando lugar a la necesidad de tratamientos individualizados y que la batería de fármacos con la que contamos en la actualidad provoca, con una incidencia alta, efectos secundarios. Finalmente debemos conocer que existen pacientes cuya tasa de regeneración de plaquetas en médula ósea es mayor a la de destrucción, dando lugar a conteos plaquetarios dentro de rangos normales sin necesidad de tratamientos inmunosupresores de por vida.

INTRODUCCIÓN

La trombocitopenia inmunomediada (TIM) es una enfermedad sanguínea donde los macrófagos, por una falta de autotolerancia, provocan una destrucción prematura de plaquetas al fagocitar los autoanticuerpos unidos a la superficie plaquetaria¹. Esta puede ser clasificada en primaria; causada sin una etiología subyacente diagnosticable y secundaria; resultado de una etiología subyacente infecciosa (principalmente transmitidos por artrópodos; *Leishmania*, *Babesia*, *Ehrlichia*, *Rickettsia* y *Anaplasma*), inflamatoria, neoplásica o inducida por fármacos o vacunas².

Los signos clínicos suelen ser los característicos de un trastorno hemostático primario. La hemorragia espontánea generalmente no ocurre hasta que el recuento de plaquetas disminuye a <30,000-50,000 plaquetas/ μ L aunque existe una correlación pobre entre el recuento absoluto de plaquetas y la probabilidad de hemorragia grave³.

El examen físico revela petequias, equimosis, hematomas, hemartrosis, epistaxis, hemorragia gastrointestinal, hemorragia oral, hemorragia vaginal, hemoptisis y/o hematuria².

Otros signos no específicos incluyen letargo, anorexia, rigidez o debilidad. La trombocitopenia también se puede descubrir de manera accidental durante controles de salud de rutina, e incluso, los perros con concentraciones de plaquetas inferiores a 10.000 / μ L pueden estar alerta sin signos clínicos de enfermedad⁴. Además existen múltiples neoplasias malignas asociadas a la trombocitopenia tales como el hemangiosarcoma, el linfoma y el melanoma².

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio retrospectivo se identifican y seleccionan 7 pacientes de